

博士論文

リスクを伴う意思決定を巡る神経基盤
— 島皮質前部の役割 —

平成 26 年度

石 井 宏 憲

目次

はじめに	1
第 1 章	リスク選好性を促進する島皮質前部
・ 背景と目的	5
・ 材料と方法	7
・ 結果	21
・ 考察	31
第 2 章	リスクを伴う意思決定における島皮質前部と前頭眼窩野の機能とドーパミンとセロトニンによる調節
・ 背景と目的	37
・ 材料と方法	39
・ 結果	41
・ 考察	49
総合考察	55
謝辞	57
引用文献	58
補足資料	
補足 1 : リスクの定義	68
補足 2 : リスクを伴う意思決定に関する行動学的知見	69
補足 3 : アイオワギャンブル課題とケンブリッジギャンブル課題	73
補足 4 : 島皮質	77
補足 5 : 実験方法に関する補足	81
補足 6 : ギャンブル課題におけるラットの行動についての補足考察	87

はじめに

損失を減らすためリスクを避けるべきか、それともより多くの利益を得るためリスクを取るべきか。これは何も投資やギャンブルのシーンだけに見られる問題ではなく、我々の日常生活のあらゆるところ、さらに言えばヒトだけでなく他の動物の生存戦略においても幅広く生じる根幹の問題である。

最適な選択を行うには事前に結果を予測することが大切であるが、現実には予測が困難なものが数多く存在する。良い結果が得られるか悪い結果となるか、結果が不確実なことは“リスク”と呼ばれる（詳細な定義に関しては補足 1 を参照）。たとえ起こり得る結果の生起確率が分かったとしても、それはあくまでも確率であり最終的にどのような結果となるかは知り得ない。このことは意思決定がなされる上で非常に重要な問題となる。数学的には、起こり得る結果内容とそれぞれの生起確率が分かっていたら、期待値を計算しそれを基に意思決定を行うのが適切である。例えば宝くじは当せん金額もその本数も明示されており、簡単に期待値を計算することが可能である。そしてその期待値は 1 枚のくじの購入金額を遥かに下回っているわけだから買わずに貯金した方がよいということになる。しかし実際には宝くじを購入する人は数多く存在する。このように期待値が算出できるような状況においても、人は必ずしも期待値に沿った意思決定を行うとは限らない。つまり結果が予測できないという“リスク”は、数学に基づいた合理的価値基準以上に、ヒトの意思決定に大きな影響を与えることがあるのである。

では我々ヒトや動物はこのようリスクを伴う意思決定を行う際にどのような原理に基づいて選択を行い、そしてそれはどのような脳のメカニズムによって生み出されているのだろうか。これまで数多くの行動学的研究がなされ、その行動原理に迫るいくつかの説が提唱されている（補足 2 にて概説を記述した）。そして近年リスクを伴う意思決定に関わる神経基盤も少しずつ明らかとなってきた（reviewed in Doya 2008; Rushworth et al., 2011; Schultz 2011）。1994 年 Bechara らは初めて実験的に、脳の特定の損傷部位と異常なリスク選好性（リスクを伴う選択を好む性質）の関係性について言及した（Bechara et al., 1994; Bechara et al., 1999）。彼らはアイオワギャンブル課題を用いて、前頭眼窩野（を含む前頭前野腹内側部）を損傷した患者が健常者が避けるようなリスクの高い選択を行う傾向を示すことを報告している（詳細は補足 3 を参照）。この研究から前頭眼窩野は目先の利益に囚われず長期的な観

点で選択を行うために重要な役割を果たしていると考えられている。リスクを伴う意思決定における前頭眼窩野の重要性は、その後の健常者を対象にした脳機能イメージング研究 (Rogers et al., 1999b; Critchley et al., 2001; Ernst et al., 2002; Fukui et al., 2005; Tobler et al., 2007; Li et al., 2010) によっても支持されたが、それと同時に前頭前野背外側部や腹内側部、帯状回、側坐核、扁桃体などその他の様々な脳領域の関与についても多くの示唆がなされた (Breiter et al., 2001; Knutson et al., 2001; Tom et al., 2007; Venkatraman et al., 2009; Mohr et al., 2010)。島皮質はそうした脳機能イメージング研究によりリスクを伴う意思決定への関与が示唆された領域であり、近年その機能を解明するため多くの研究が進められている (Paulus et al., 2003; Kuhnen and Knutson, 2005; Preusschoff et al., 2008; Xue et al., 2010; Burke and Tobler, 2011)。島皮質、特に前部はギャンブル課題においてリスクを伴う選択を行う際 (Paulus et al., 2003) やスロットマシンで勝った時 (Clark et al., 2010) に賦活化することから、積極的にリスクを取るような選択を行う場合に重要な役割を果たす可能性が推察される。しかし脳機能イメージング研究ではリスクを伴う意思決定と島皮質前部の活動との相関関係は示されたものの、その因果関係を示した研究はなく、実際にどのような働きを担っているのかは不明であった。

そこで著者らはラットをモデルとした行動薬理実験を行い、島皮質前部の不活性化がラットのリスク選好性に与える影響を調べた。行動課題ではレバー押しを通じて摂水制限したラットに、“確実に2滴の水が得られるリスクがない選択肢”と“倍の水4滴が得られる可能性があるが確率50%で全く何も得られない可能性もあるリスクがある選択肢”を選択させ、どちらを多く選択するかをもってリスク選好性を評価した。興味深いことに2つの選択肢の期待値は等価であるにもかかわらず、ラットはリスクがある選択肢を好んで選択する傾向を示した。しかし薬理実験において島皮質前部に神経活動を抑制するためのムシモールとバクロフェン ($GABA_A$ および B 受容体のアゴニスト) を局所注入すると、反対にラットはリスクを避け報酬が少なくても確実に得られる選択を行うようになった。これは予想されたように島皮質前部にはリスク選好性を促進する機能があることを示している。一方前頭眼窩野の不活性化は先行研究と同様リスク選好性を増加させたことから、前頭眼窩野にはリスク選好性を抑制する機能があることが確認された。第1章ではこの成果について記述する。尚、この成果は2012年 *Journal of Neuroscience* 誌にて発表されており、また本研究の予備実験で得られた成果は2010年著者の修士論文にて発表されている。

さらにリスクを伴う意思決定を行う際実際に島皮質前部がどのような神経活動を示すのかわかるようにするため、著者は所属する脳情報処理分野の修士学生であった高橋勝平氏と共同で電気生理実験を行った。その結果、島皮質前部のほとんどの単一神経活動は行動課題のイベント { 選択を行う期間、報酬が与えられるまでの期間、実際に報酬が与えられた後の期間 } のいずれかもしくは複数に反応を示し、さらにその中の多くがリスクがある選択肢を選んだ場合とリスクがない選択肢を選んだ場合で異なる活動を示すことが明らかとなった。特にリスクがある選択肢を選ぶ直前に特異的に発火頻度が増加（あるいは減少）する単一神経活動が発見されたことは、傍証ではあるが、島皮質前部が実際の意思決定そのものに深く関与していることを示唆しているように思われる。尚、この研究成果の詳細は 2013 年高橋氏の修士論文にて発表されているため、本論では記述しない。

第 2 章では、ドーパミンとセロトニンがリスクを伴う意思決定における島皮質前部と前頭眼窩野の機能をどのように調節しているのかについて記述する。前述のように各脳領域の役割に対する理解が進む一方で、それらを調節すると考えられる広範囲調節系の神経伝達物質であるドーパミンとセロトニンの役割についても多くの研究がなされてきた。ところが過去の研究においては個別の脳領域ではなく脳全体あるいは全身のドーパミン・セロトニン濃度を操作していたため、それらの神経伝達物質が実際に作用する標的の脳領域の機能にどのような影響を与えているかについては未だ不明な点が多い。そこで本研究では、第 1 章でリスクを伴う意思決定において異なる機能を有することが分かった島皮質前部と前頭眼窩野の 2 領域にドーパミン受容体阻害剤とセロトニン受容体阻害剤を局所投与し、リスク選好性に与える影響を評価した。この際ドーパミン・セロトニンそれぞれの主要な受容体サブタイプ D_1 ・ D_2 ・ $5-HT_{1A}$ ・ $5-HT_{2A}$ 受容体に選択的な阻害剤を用いた。これは受容体サブタイプによってニューロンに及ぼす生理作用だけでなく、発現分布やリガンドに対する感受性も異なるため、行動に与える影響においても違いが生じる可能性があったためである。その結果、セロトニンの $5-HT_{1A}$ 受容体阻害剤は島皮質前部においてはリスク選好性を増加する一方、前頭眼窩野においてはリスク選好性を減少することが分かった。またドーパミンの D_2 受容体阻害剤も島皮質前部においてリスク選好性を増加させたが、詳細な解析を行うと、 $5-HT_{1A}$ 受容体阻害剤はギャンブルに負けた後のリスク選好性を増加させていたのに対し D_2 受容体阻害剤はギャンブルに勝った後のリスク選好性を増加させていたことが分かった。これらの結果から、まずリスクを伴う意思決定においてセロトニンは島皮質前部と前頭眼窩野のそれぞれの機能を

抑制すること、そしてドーパミンもセロトニンと同様島皮質前部によるリスク選好性の促進を抑えているもののそれぞれの影響には履歴依存的な違いがあることが示唆された。尚、この成果は 2014 年 *Neuroscience research* 誌にて発表された。

* 本論は前述の各雑誌あるいは修士論文に掲載されている研究内容および著者らが 2013 年に執筆した **BRAIN and NERVE** 誌の総説「ハイリスクハイリターンの行動を促す島皮質」を基に記述している。よって文章および図にはそれらから転載しているものを含む。

第 1 章 リスク選好性を促進する島皮質前部

背景と目的

他者との競争に勝ち抜くためには時としてリスクを冒してより大きな利得を目指す必要もある。しかし過度にリスクを取りすぎれば身を亡ぼすことになるだろう。大切なのはそのバランスである。では脳はどのようにしてリスクを取るか避けるか選択を行っているのだろうか。

古くから前頭前野の腹側部の損傷は理性的な判断を失わせ、リスクを度外視した近視眼的な選択への偏好を引き起こすことが知られている。Damasio らはその最も典型的な症例として E. V. R. という患者を例に挙げている (Bechara et al., 1994)。髄膜腫治療のため両側の前頭眼窩部を摘出された E. V. R. は術後、将来に関する意思決定において深刻な問題を抱えるようになったという。彼は正常な IQ や記憶力を保ち Wisconsin Card Sorting Test や Word Fluency Test、Category Test などの神経心理学テストをパスしているにもかかわらず、明らかに失敗すると分かる危険なベンチャービジネスに手を出し失敗を繰り返した。Bechara ら (Bechara et al., 1994) は脳の特定の部位の損傷が異常なリスク選好性を引き起こす原因となることを実験的に確かめるため、アイオワギャンブル課題を用いて、前頭前野の中でも前頭眼窩野 (補図 3A) を含む前頭前野腹内側を損傷した患者たちと健常者たちのリスク選好性の違いについて調べた (詳細は補足 3 を参照)。課題では、プレイヤーは中身の分からない 4 つの選択肢の中から最も長期的に利益が得られるものを、金銭の獲得と損失を繰り返しながら模索する。選択肢の中には巨額を獲得できるものの大きな損失もあり得るハイリスクハイリターンな設定のものが含まれており、健常なプレイヤーはその選択肢がハイリスクであることに気付いた時点で選択しなくなった。しかし前頭眼窩野を損傷した患者らは、そのことに気付いてもなおハイリスクハイリターンな選択を続ける傾向を示した。つまり前頭眼窩野の損傷によって近視眼的な利益に目を奪われ、長期的な見通しが失われてしまったと解釈できる。その後 Rogers らは、PET を用いた脳機能イメージングによって健常者のリスクを伴う意思決定においても前頭眼窩野が賦活化することを確認した (Rogers et al., 1999b)。この賦活レベルはリスクを取るべきか判断に迷うような条件になるほど高かった。さらに Tobler らは fMRI を用いて、前頭眼窩野外側部の賦活レベルがリスクの大きさに相関しており、またそれは個々人のリスク忌避の度合と相関していることを見出した (Tobler et al.,

2007)。これらの知見は、前頭眼窩野はリスクを伴う意思決定において近視眼的な利得に惑わされず長期的な利得の見積りを行うのに重要な役割を果たしていることを示唆している。

一方脳機能イメージングによる研究は、前頭眼窩野だけでなくその他の様々な脳領域の関与についても明らかにした。前頭前野背外側部、帯状回、腹側線条体、腹側被蓋野などと並び、島皮質はギャンブル課題遂行中に賦活化することが初期の研究から報告されてきた（島皮質については補足4を参照）。しかし、例えば Rogers et al. (1999b) や Critchley et al. (2001)、Ernst et al. (2002) の論文では賦活化した領域としてわずかに触れられているのみで、その機能的意義についてはほとんど考察されなかった。2003年 Paulus らは、fMRI を用いてリスクを冒した時と避けた時の脳活動を比較した場合、右島皮質の活動がリスクを冒した時において強く賦活し、さらにリスク忌避の指標とされる Harm avoidance や Neuroticism の度合いが強い人ほど、リスクを冒す際により強く島皮質が賦活していたことを見出した（Paulus et al., 2003）。以降、様々な研究グループが脳機能イメージングを用いてリスクを伴う意思決定に関連した島皮質、特に島皮質前部の賦活化を報告してきた（Paulus et al., 2003; Kuhnen and Knutson, 2005; Preuschoff et al., 2008; Xue et al., 2010; Burke and Tobler, 2011）。Preuschoff らのグループは島皮質前部の活動がリスクの予測や、予測と実際に得られた結果との誤差に相関していたことを、また Xue らのグループは前試行の選択でリスクがある選択を避け次の試行でリスクがある選択を行った場合に高い活動を示したことを報告している。しかしこれらの脳機能イメージング研究によってリスクを伴う意思決定と島皮質の活動との相関関係は示されたものの、その因果関係について直接示した研究はこれまでになく、実際にどのような働きを担っているのかは不明であった。

そこで本研究では島皮質とリスクを伴う意思決定の因果関係およびその機能を明らかにするため、ラットをモデルとした行動薬理実験を行い、島皮質前部の機能障害がラットのリスク選好性にどのような影響を及ぼすのか調べた。前述の先行研究から、島皮質前部は積極的にリスクを取るような選択を行う場合に重要な役割を果たす可能性が予想された。この結果から島皮質前部は、目先の利益に囚われてリスクを冒してしまわないように行動選択を制御していると考えられる前頭眼窩野とは対比的な関係にあると推察される。本研究ではこの島皮質前部と前頭眼窩野の機能差を明確にするため、島皮質前部の機能障害実験を行った個体と同一の個体でさらに前頭眼窩野の機能障害実験も行った。前頭眼窩野の機能障害実験は先

行研究の追試験も兼ねており、得られた実験結果が本研究の実験手法によるアーチファクトに起因している可能性を除外するためでもある。さらにラットのリスク選好性を評価するためのギャンブル課題も、2種類の条件設定を用いることで結果の一般性について検証した。1つは報酬の量にリスクが設けられており、“多くの報酬が得られる可能性もあるが何も得られない可能性もあるリスクがある選択肢”と“量は少ないが確実に得られるリスクがない選択肢”を選択させるギャンブル課題である。もう1つは報酬が得られるまでの時間（遅延）にリスクが設けられており、“すぐに報酬が得られる可能性もあるが長時間待たされる可能性もあるリスクがある選択肢”と“常に待ち時間が決まっているリスクがない選択肢”を選択させるギャンブル課題である。

材料と方法

実験概要

島皮質前部と前頭眼窩野の薬理的機能障害がラットのリスクを伴う意思決定に及ぼす影響を調べるため、前述の2種類のギャンブル課題を用いてラットのリスク選好性を評価した。具体的には、摂水制限を行ったラットに対して、報酬量に関するギャンブル課題では“水4滴を得られるか何も得られないかが確率50%のリスクがある選択肢”と“確実にX滴の水が得られるリスクがない選択肢（Xは1, 2, 3, 4の4条件を調べた）”とを選択させた。そして報酬の遅延に関するギャンブル課題では、同量の水が“すぐに得られるか10秒待たなければならぬかが確率50%のリスクがある選択肢”と“常にX秒待てば得られるリスクがない選択肢（Xは0, 1.5, 3, 5, 10の5条件）”とを選択させた。またコントロール実験として異時点間選択課題を用いて、島皮質前部と前頭眼窩野の薬理的機能障害が報酬量や遅延時間の弁別そのものに影響するかどうかを調べた。異時点間選択課題ではリスクの要素（結果の非予測性）を排除し、“すぐに得られるが水が2滴しか得られない選択肢”と“X秒待てば水が4滴得られる選択肢（Xは0, 3, 5, 7, 10の5条件）”とを選択させた。行動実験の基本的な枠組みはレバー押しに対して報酬として水を与えるというものであり、2つの選択肢として2つのレバーを与えて自由に選択させた。ラットにはまず行動課題の基本的なルールを学習させ、次に報酬量の違いもしくは報酬の遅延時間の違いを弁別させる訓練を行った。そして薬理的機能障害を行わない通常の状態でのラットの行動を、それぞれ3種の行動課題において前述の条件毎に測定した。最終的に、薬剤を標的領域に局所的に注入するためのガイドカニューレを留置する手術を行い、術後回復期間を経た後に、薬理実験を行った。薬理実験ではカニューレを通し

て標的領域の神経活動を抑制するためのムシモールとバクロフェン混合液を注入し、抑制効果が十分に得られたと考えられる 30 分後に行動課題を課した。

被験体

被験体はアルビノの Wistar 系雄ラットで、体重 200g-320g のものを用いた。実験に供した個体数は、報酬量に関するギャンブル課題では 9 匹、報酬の遅延に関するギャンブル課題では 10 匹、異時点間選択課題では 5 匹であった。昼夜を逆転させて飼育することで（飼育室内の蛍光灯を 20:00-8:00 間点灯、8:00-20:00 間消灯した）、夜行性であるラットの活動時間に行動実験を行った。各個体は個別の飼育ケージで飼育した。室温は 22-26 度を維持した。餌は固形飼料（MR ストック、熊谷商店）を与え、常時摂食できるようにした。水は行動実験で報酬として用いたため通常時での摂水は制限し、行動実験を通して一日に必要な水量を摂取させるようにした。但し体重を日々モニターし、必要であれば実験で与える水の他に実験終了後不足分を与え、体重を一定に維持できるようにした。実験動物の取り扱いは「米国国立衛生研究所（NIH）動物実験指針」、および「東北大学における動物実験に関する指針」に従った。

行動実験装置

図 1-1 に行動実験装置の概要を示す。木製の防音箱（60×45×35cm）を仕切板によって仕切り、片側を各種装置・機器の収納場所、反対側をラットが課題を遂行する場所とした。また防音箱には換気ファンを設置した。行動課題のオペラント条件付けには 5 つの装置 {ノーズポーク装置・白色 LED 付きレバー×2・ノズル・スピーカー} を用いた。左右のレバーを選

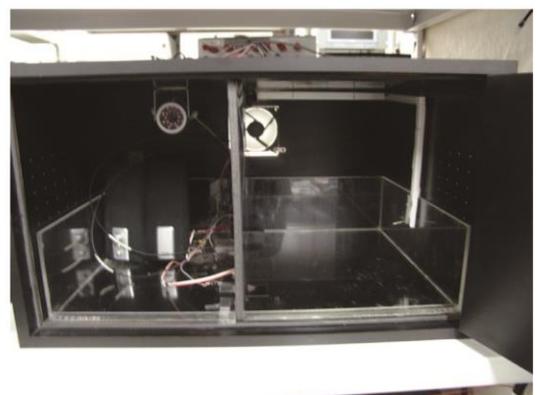
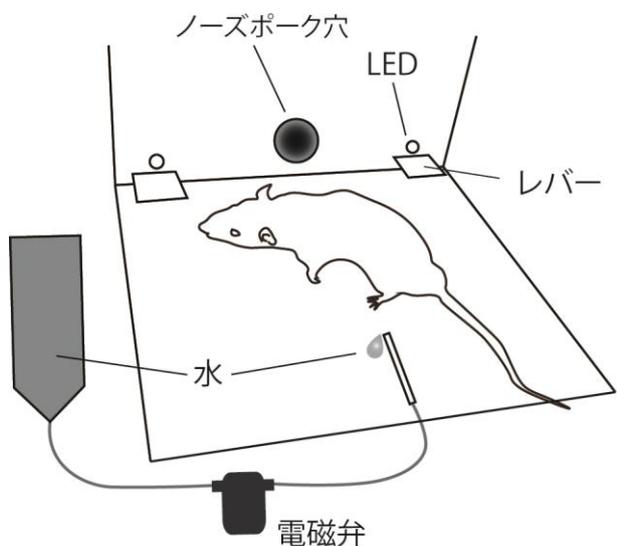


図 1-1. 行動実験装置

扱わせるにあたって両者から均等な位置において試行を開始させるために、まず仕切板の中央下部に設けたノズポーク装置（円柱状の穴）にノズポークを行わせた。ノズポークは装置の入口に設けた赤外線センサー（OMRON）で検出した。白色 LED 付きレバーはそれぞれ仕切板の両端に設置した。また仕切板と反対側の壁には、ステンレス製のノズルを設置し、報酬である水を与えた。ノズルはポリエチレンチューブを通して電磁弁、そして貯水槽に繋がっており、ノズルから出る水量およびタイミングは電磁弁の開閉とその長さで操作した。スピーカーは収納部に設置した。各電子装置・機器は Digital I/O card (PCI-7248; ADLINK Technology)を介してタワー型パーソナルコンピューター（OS は Windows 2000, XP, 7 を使用）に繋ぎ、自作のプログラム（Visual studio 6.0 にて作成）で制御した。

行動課題の訓練

訓練その 1：ノズポークとレバー押し

第一段階

行動課題の基本動作であるノズポークとレバー押しは 3 つのステップを踏んで訓練した。まず初めにレバー押しにより水が得られることを学習させた（レバーの左右は問わない）。この際、レバーを押すと音刺激（2000Hz、純音）が呈示されるようにした。音刺激は学習の効率を上げるための強化子として用いた。音刺激は 1 秒間呈示し、直後に報酬を与えた。この 1 秒はレバーを押してからノズルに到達するための時間として設けた。前日から摂水を制限した上で訓練を行うと、ラットは探索行動を取るうちにレバー押しと報酬の関係性を学習し、およそ 1-2 日で淀みなくレバー押しを繰り返すようになった。

第二段階

第二段階では光刺激（白色 LED の点灯）が呈示された方のレバーのみを選択するよう訓練した。すなわち光刺激は選択可能なレバーを示す役割を果たした。左右どちらのレバーを押しても報酬が得られる条件であっても、ラットはそれらを均等に選択するのではなく左右どちらか一方のレバーのみを押し続ける傾向がある。そこで 2 つのレバー間で報酬条件が異なることを認識させた上で選択を行わせるためには、学習段階を設け押すことが出来るレバーを制限しレバーと報酬条件の関係を学習する機会を左右で均等にすることが必要となる。本研究ではレバーの選択制限を光刺激の有無で示すことにした。第二段階では LED の点灯を試行開始とし、左右どちらかをランダムに点灯させた。そしてレバー押しと同時に消灯させた。間違えた場合、つまり LED が点灯していない方のレバーを押しても同様に LED は消灯させたが、報酬は与えず音刺激も提示しなかった。正答率が 95%を越えるまで訓練を繰り返した。

およそ 3-5 日で学習した。

第三段階

第三段階では試行開始にノーズポークを行うことを学習させた。これは前述のように、2 つのレバーの中間の位置から試行を開始させることで、ラットの両視野に光刺激が入るようにし、選択肢が 2 つあることを示す目的である。ノーズポークを検出後、左右両方あるいはいずれかの光刺激を呈示しレバーが選択可能になったことを知らせた。ラットはノーズポークにより自発的に試行を開始した。ノーズポーク後 10 秒以内にレバーを押さなかった場合は試行をキャンセルし、LED を消灯しレバーを選択不可にした。大半のラットは 1 日、遅くても 2 日で学習した。最終的な 1 試行で起きる出来事を図 1-2A に示した。

訓練その 2：報酬量の弁別および遅延時間の弁別

ギャンブル課題においてラットがリスクをどのように評価するか調べる上で、課題で用いる報酬条件同士の差を弁別できることが前提条件となる。例えば報酬量に関するギャンブル課題で“水 4 滴か 0 滴か確率 50% のリスクがある選択肢”と“水 2 滴が得られるリスクがない選択肢”を選択させるのであれば、そもそも水 4 滴と 2 滴（あるいは 2 滴と 0 滴）の違いを弁別できている必要がある。そこで、訓練その 1 が終了したラットに対し、報酬量に関するギャンブル課題に使用する群（9 匹）は報酬量の弁別課題を、報酬の遅延に関するギャンブル課題に使用する群（10 匹）は遅延時間の弁別課題を、そして異時点間選択課題に使用する群（5 匹）は報酬量の弁別課題と遅延時間の弁別課題の両方を訓練した。報酬量の弁別課題では水 4 滴と 2 滴を弁別させた。1 滴あたり 50 μ l で、水滴を与える間隔は 700ms とした。またレバーを押してから 3 秒後に報酬を与えた。遅延時間の弁別課題では 0 秒と 1.5 秒を弁別させた。但し遅延時間はレバーを押してからノズルに到達するまでの時間として設けた 1 秒を 0 秒地点として計算した。レバー押しから報酬が与えられるまでの間、音刺激は呈示され続けた。報酬はどちらの遅延時間を選択しても 100 μ l が与えられた。またこれらの弁別課題では、2 つの報酬条件にそれぞれ異なる音刺激を割り当てた。使用した音は 8000Hz、2000Hz、500Hz の 3 種類を用いた。報酬条件と音刺激の関係性はセッションを越えても統一することで学習しやすくした。報酬条件と音刺激の組み合わせは個体ごとにランダムに行った。

弁別課題のセッション構成

弁別課題では 2 種類の報酬条件を左右それぞれのレバーに割り振ったが、報酬条件とレバーの位置関係はセッション毎に交互に入れ替えた。これは、レバーの位置と報酬条件の関係性を固定化してしまうと、弁別に成功しているのか、単にレバーの位置への好みで選択に偏

りが生じているだけなのか判断できないからである。そこでセッションのはじめ 40 試行を学習期間として強制選択によって報酬条件とレバーの位置関係を学習させ、続く 100 試行の自由選択において各レバーの選択率を評価した（図 1-2B）。学習期間の 40 試行の内、はじめの 10 試行は左レバーの光刺激のみを提示し、次の 10 試行は右レバーの光刺激のみを、そしてその後の 16 試行は 2 試行ずつ交互に、最後 4 試行は 1 試行ずつ交互に片方の光刺激のみを提示した。

セッションは一日に最大 3 回行った。セッション終了後は飼育室に戻し、3 時間以上間を空けて次のセッションを行った。

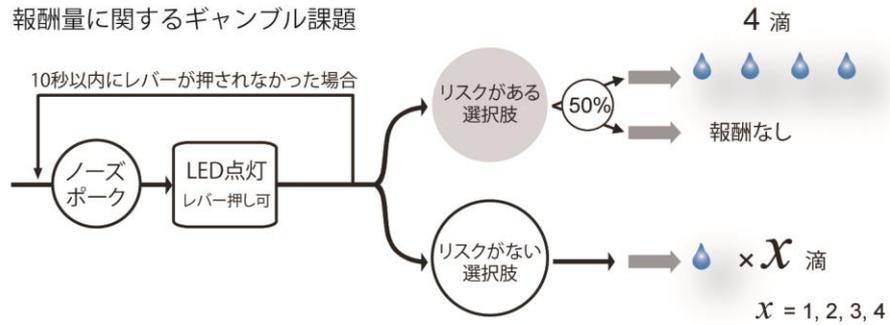
弁別能力の判定

与えた 2 つの報酬条件のうち良い報酬条件が得られるレバーを押した割合が 65%以上になったセッションを、弁別が行われたと判断した（ χ^2 二乗検定では 100 回の自由選択中 61 回以上で有意な偏りがあったとされる）。より良い報酬条件が得られるレバーを押した割合が 10 セッション連続して 65%を上回った個体を、弁別能力があるとしてギャンブル課題に用いた。弁別課題にて試験してはじめての数セッションの内は自由に選択できるという課題の枠組みやセッション毎に関係性が入れ替わることを認識していなかったせい、課題の成績が安定しなかった。しかし訓練を繰り返すと高い成績で安定するようになり、ほとんどのセッションで 85%以上の割合で良い報酬条件が得られるレバーを選択するようになった。上述の基準に達するまでおよそ 20-40 セッションの訓練を要した。

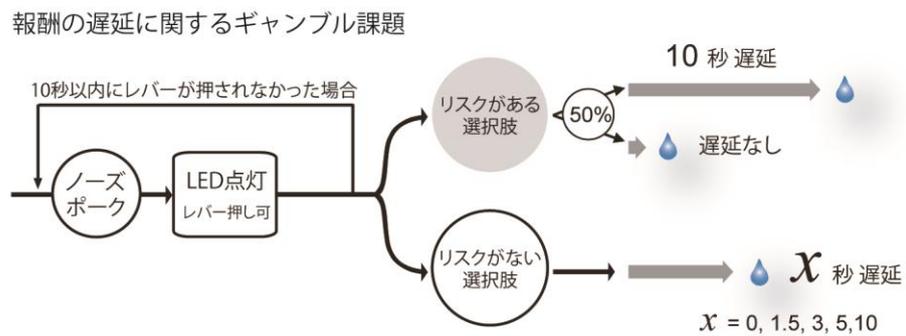
報酬量に関するギャンブル課題と報酬の遅延に関するギャンブル課題

いずれのギャンブル課題も、Logan らが用いた行動課題を参考に設計した（Logan, 1965）。報酬量に関するギャンブル課題では、“水 4 滴か 0 滴か確率 50%のリスクがある選択肢”と“必ず X 滴得られるリスクがない選択肢”を選択させた。 X は 1, 2, 3, 4 の 4 条件を調べた。報酬の遅延に関するギャンブル課題では、100 μ l の水を得るにあたって“遅延時間が 0 秒か 10 秒待た確率 50%のリスクがある選択肢”と“必ず X 秒待てば得られるリスクがない選択肢”を選択させた。 X は 0, 1.5, 3, 5, 10 の 5 条件を選択させた。薬理実験を行う前に、まずラットがどのような選好性を示すのか調べるため、弁別課題と同様の方法で各 X の条件における選択率を計測した。各 X の条件とも 12 セッション以上試験し、最新 12 セッションの内リスクがある選択肢を選んだ割合が最大であったものと最少であったものを除外した 10 セッションの平均を最終的な選択率とした（図 1-2C）。

A

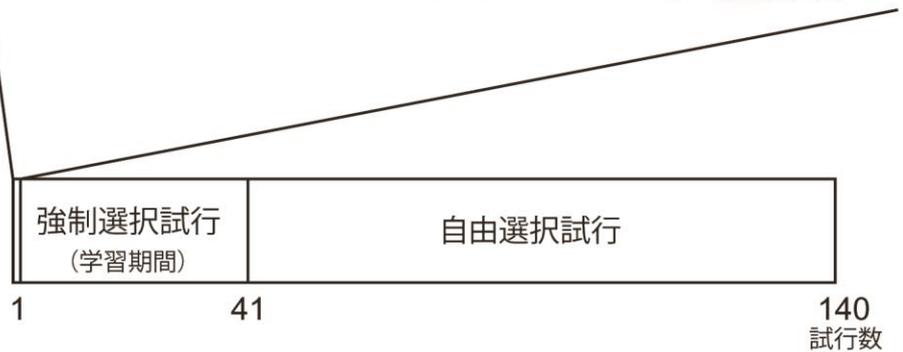


1 試行の構成



B

1 セッションの構成



C

各試験条件におけるデータの取得方法

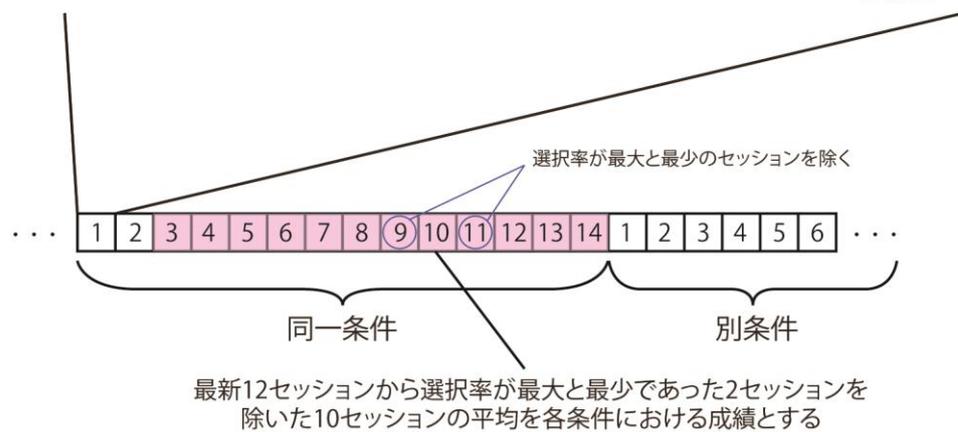


図 1-2. 1 試行の構成 (A)、1 セッションの構成 (B) および各試験条件におけるデータの取得方法 (C)

異時点間選択課題

島皮質前部や前頭眼窩野の薬理的機能障害がギャンブル課題におけるリスク選好性に影響を及ぼしたとしても、それが単に報酬量や遅延時間の弁別そのものに影響するものであった可能性や、リスクのあるなしと関係なく意思決定全般に影響するものであった可能性も考えられる。そこでリスクの要素（結果の非予測性）がない異時点間選択課題を用いて、それらの検証を行った。異時点間選択課題は“報酬量は少ないがすぐに得られる選択肢”と“報酬量は多いが待たされる選択肢”を選択させる課題で、主に遅延価値割引を対象とする研究で広く用いられてきた（Cardinal et al., 2001; Kalenscher and Pennartz, 2008）。本研究では Evenden and Ryan (1996)らの用いた課題設計を参考にした。“水 2 滴が遅延時間 0 秒で与えられる選択肢”と“水 4 滴が遅延時間 X 秒で与えられる選択肢を選択させ、 X は 0, 3, 5, 7, 10 の 5 条件を調べた。その他の条件はギャンブル課題と同じである。

手術

各ギャンブル課題あるいは異時点間選択課題における行動データを取得し終えた個体には次に薬理実験のためのガイドカニューレ留置手術を施した。手術を行う前に、体力を十分に回復させるため 3 日間水と固形飼料を自由に摂取させた。手術では始めに、ラットをイソフルラン（エスカイン吸入麻酔薬、ファイザー）による吸入麻酔で鎮静させた後、硫酸アトロピン（0.2 mg/kg、硫酸アトロピン注射液タナベ、田辺製薬）、塩酸ケタミン（60 mg/kg、ケタラル筋注用 500 mg、第一三共プロファーマ）、塩酸キシラジン（4.8 mg/kg; セラクター 2 %注射液、バイエル）を腹腔投与し長時間麻酔下においた。頬ヒゲの動きや体性感覚の消失、呼吸の様子から麻酔が十分に深いことを確認し、ラットを脳定位固定装置（SN-6、ナリシゲ）に固定した。次に頭部表皮をイソジンもしくはヒビテンによって消毒した後、ハサミとメスを用いて頭部の皮膚を切開し頭蓋を露出させた。ついでブレグマ座標を測定し、ドリルで目的脳領域直上となる座標の頭蓋骨に直径 1mm 程度の穴を開けた。ガイドカニューレを挿入する座標は The rat brain (Paxions, 2007)を参考に両側の前頭眼窩野（AP: + 4.2 mm, ML: \pm 2.2 mm, DV: -4.0 mm）と両側の島皮質前部（AP: + 3.0 mm, ML: \pm 4.4 mm, DV: -4.6 mm）とした。深さ方向はガイドカニューレの先端が目的領域の中心座標より 1mm 直上に位置するよう設定した。頭蓋骨に穴を開けた後、4 つのガイドカニューレを脳内におよそ 1 mm/min の速度で刺入した。ガイドカニューレには 23G（直径 0.6mm）のステンレス注射針（テルモ）を加工して作製したものをを用いた（図 1-3A・C。作製方法については補足 5-4 を参照）。目的座標まで刺入したガイドカニューレはスーパーボンド（Super-Bond C&B、サンメディカル株

式会社)を用いて頭蓋骨に固定した。ガイドカニューレにはダミーカニューレ(30G、直径0.3mm)を挿入し、内部の詰まりを防いだ。さらにガイドカニューレの保護を目的としてスクリーキャップチューブ(容量1.5mlタイプ)を加工したものを被せ、3本のネジ(1.4×3.0)をキャップを押さえ込むように頭蓋骨にねじ込み、最後にデンタルセメント(ジーシーレペアジン L100 g・ジーシーレペアジン粉 100 g, ジーシー)で固定し補強した(図1-3)。術後1週間の回復期間を設けた後に、再度弁別課題および各ギャンブル課題あるいは異時点間選択課題にて訓練を行った。再訓練では、各セッションの30分前にハンドリングを行い薬剤注入に向けてラットを一連の作業に順化させた。

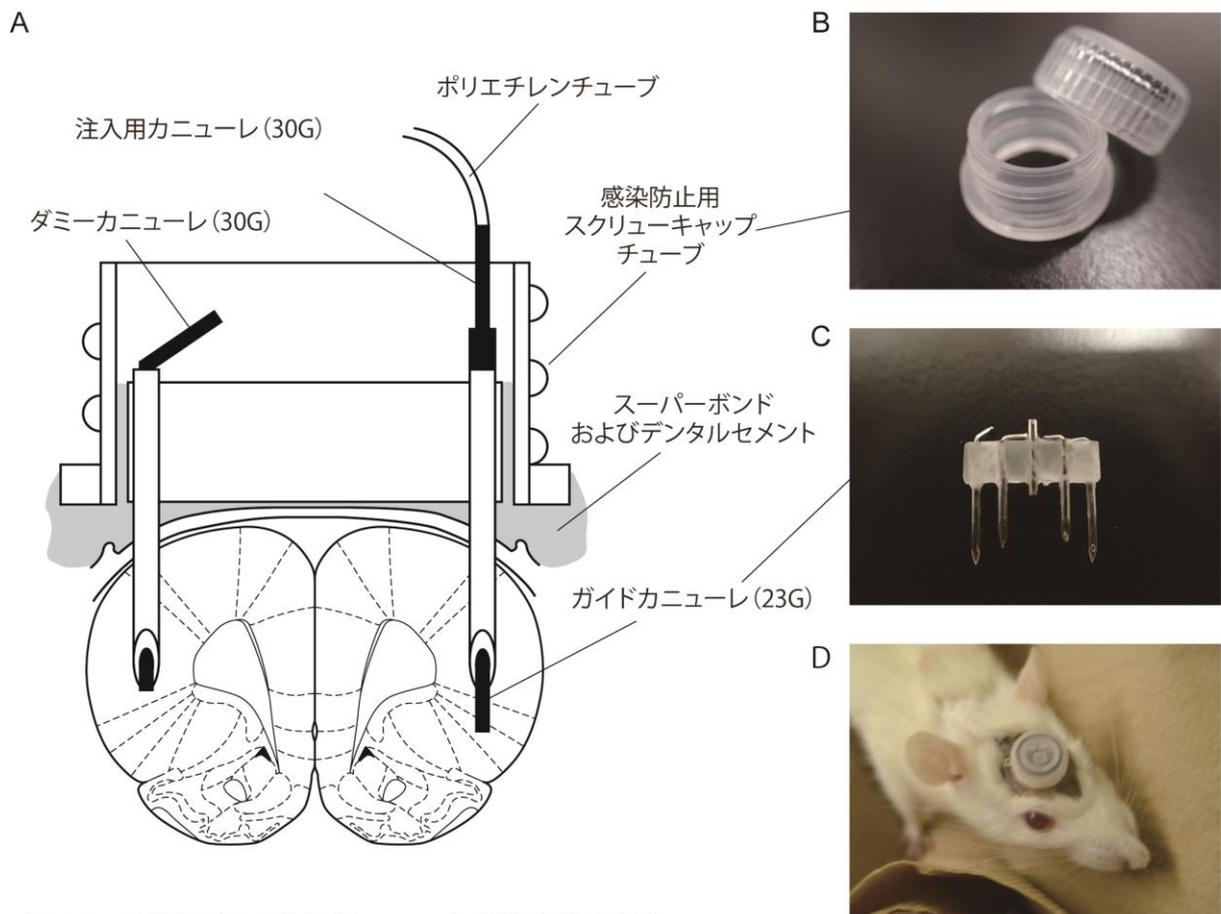


図1-3. 薬剤注入用ガイドカニューレ留置手術の概要

Aは薬理実験の概要。注入の際にはガイドカニューレからダミーカニューレを抜き注入用カニューレを挿入する。Bは感染防止用キャップ。スクリーキャップチューブのヘッド部分を用いて作製。Cは作製したガイドカニューレ装置。島皮質前部と前頭眼窩野は近接しているため、ガイドカニューレを頭蓋骨に個別に接着することが難しい。そこで4箇所同時に埋込ができるよう設計した装置を作製した。ガイドカニューレにはそれぞれダミーカニューレが挿入されている。Dは留置手術後のラットの様子。

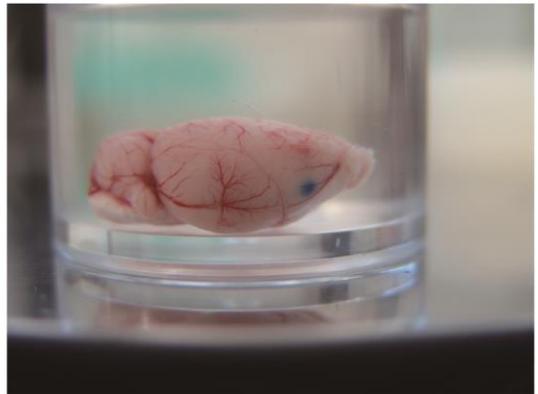
薬剤

神経活動を抑制するため、本実験では先行研究（Ghods-Sharifi et al., 2009; Takahashi et al., 2009）に倣い Muscimol (GABA_A 受容体作動薬) と Baclofen (GABA_B 受容体作動薬) (SIGMA) の混合液を用いた。Muscimol と Baclofen はそれぞれ生理食塩水(大塚製薬)に溶かし 200 ng/μl とした上で、同量混ぜ合わせた。よって最終濃度は 100 ng/μl である。この濃度は先行研究（Ghods-Sharifi et al., 2009; Horst and Laubach 2009; Takahashi et al., 2009）と予備実験（著者の修士論文）を参考に決定した。対照実験では生理食塩水のみを注入した。注入量は各半球 100 nl とした。本研究では隣接する島皮質前部と前頭眼窩野の機能差を調べるのが目的である。そこで、薬剤が互いの領域に拡散するのを防ぐため、前述の先行研究と比べ少ない量を用いた。ただし同量 100 nl の Muscimol の皮質内での拡散範囲を調べた Edeline らの報告によると（Edeline et al., 2002）、これは単独の領域をカバーするには十分な量であると考えられる。さらに本実験手法での薬剤の拡散範囲を調べるため、分子量の異なる 2 つの色素、チオニンとポンタミンスカイブルーをそれぞれ薬剤注入と同じ手法を用いて島皮質前部と前頭眼窩野の両方に注入した（図 1-4）。薄切片にて拡散範囲を確認すると、どちらもの領域においてもおよそ 1.5 mm 幅で拡散しており、やはり目的領域をカバーするのに十分な範囲であった。さらに重要なことに、2 領域への注入において拡散範囲のオーバーラップは見られなかった。

図 1-4. 薬剤拡散範囲確認実験

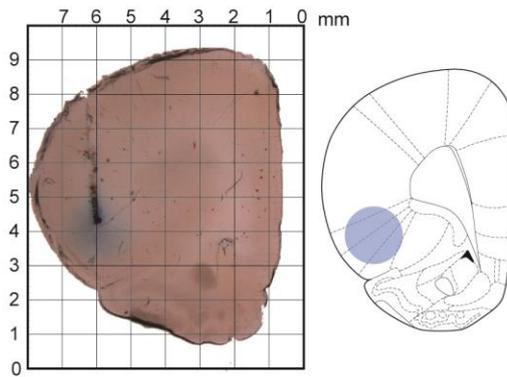
薬剤の拡散範囲を調べるため分子量の異なる2つの色素、チオニンとポンタミンスカイブルーをそれぞれ薬剤注入と同じ手法を用いて島皮質前部と前頭眼窩野に注入した。30分後に脳を摘出、薄片にて拡散範囲を測定した。

- 方法
- ・ポンタミンスカイブルー (N=4)、チオニン (N=2)
 - ・注入量：100 nl、注入速度：50 nl/min
 - ・注入後1分間静置
 - ・30分後、吸入麻酔下で断頭後即座に脳を摘出
 - ・ビブラトームにて300 μmの薄片を作製

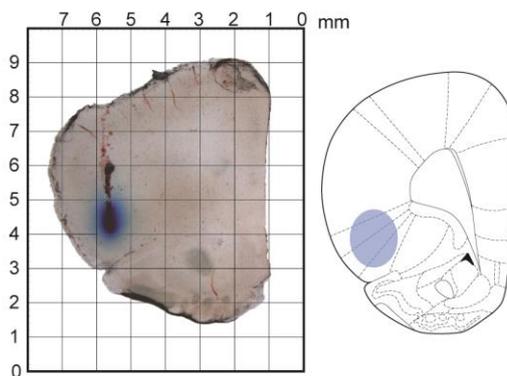


結果

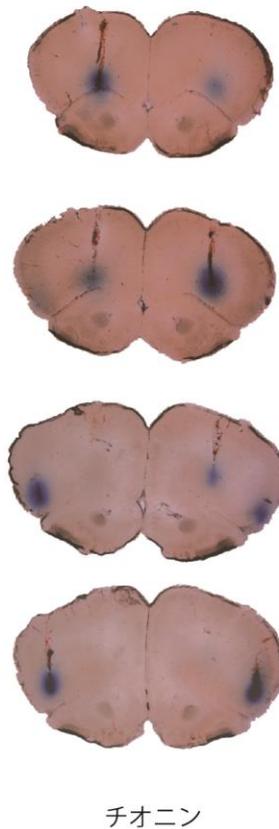
		幅	高さ (mm)
ポンタミンスカイブルー (N=4)	前頭眼窩野	1.46 ± 0.19	1.48 ± 0.23
	島皮質前部	1.46 ± 0.36	1.67 ± 0.23
チオニン (N=2)	前頭眼窩野	1.39 ± 0.18	1.48 ± 0.14
	島皮質前部	1.50 ± 0.09	1.74 ± 0.27



ポンタミンスカイブルー



チオニン



チオニン

薬剤注入手順

薬剤注入には注入用カニューレ（30G、0.6 mm）、ポリエチレンチューブ、10 μ l ハミルトンマイクロシリンジ、自動注入ポンプを用いた。注入用カニューレはガイドカニューレに挿入した際先端がダミーカニューレよりも 1 mm 出るよう設計されており、目的領域の中心にくるようになっている。注入用カニューレと 10 μ l ハミルトンマイクロシリンジはポリエチレンチューブで繋ぎ、中には流動パラフィンを充填した。薬剤はカニューレ先端から必要量吸引した。薬剤注入は行動試験の 30 分前に行った。薬剤注入に際して、ラットは麻酔せず実験者の膝の上で優しくハンドリングしながら取扱った（図 1-5）。注入は片半球ずつ行った。まず、頭部に装着したキャップの蓋を外し、ガイドカニューレからダミーカニューレを抜き注入用カニューレを挿入した。注入は自動注入ポンプを用いて行った。注入速度は 50 nl/min としたため注入を完了するまでに 2 分を要した。ポンプの作動時間終了後も、薬剤が最後まで拡散するのを待つために 1 分間、そのままの状態にした。注入後は注入用カニューレを抜き代わりにダミーカニューレを挿入し、キャップの蓋を閉めた。注入の前後には薬液がカニューレ先端から出ることを視認し、詰まりがないことを確認した。両半球への薬剤注入を終えるのには 7-10 分ほど要した。ラットを一連の作業に順化させるため、薬理実験を行う直前の 5 セッションにおいても疑似注入（薬剤注入以外全く同じ作業を行う）を行った。

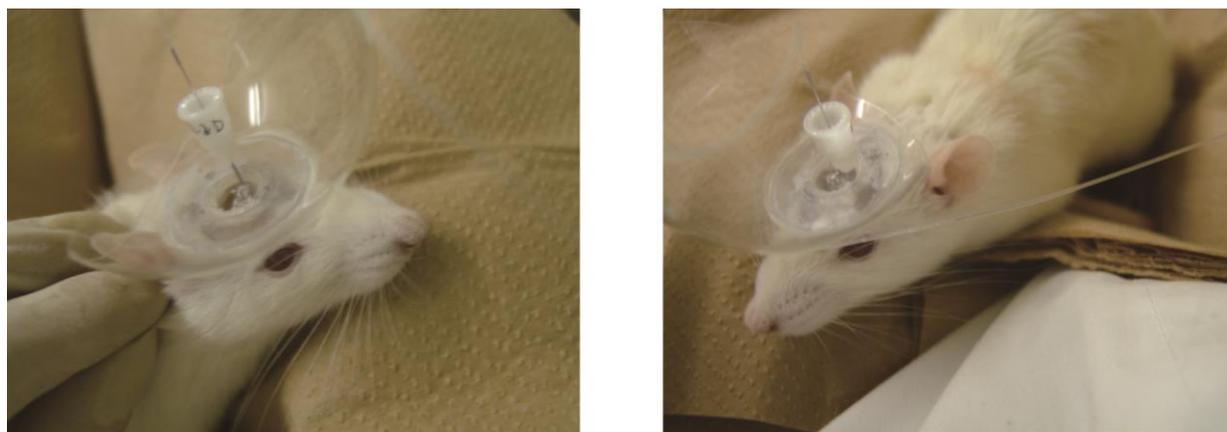


図 1-5. 薬剤注入中の様子

覚醒下で注入を行った。四肢による引掻きから注入用カニューレを守るためバイザーを装着している。注入用カニューレは歯科用注射針を利用しており、ポリエチレンチューブを介してハミルトンシリンジに接続されている。注入はポンプ制御による圧注入による。

薬理実験

薬理実験では島皮質前部あるいは前頭眼窩野の機能障害がリスク選好性に与える影響、つまりリスクがある選択肢を選ぶ割合の変化を調べる。そこで機能障害によって選択率が増え、でも減ってもなるべく公平にその度合いを評価できるように、基準となる通常の実験条件が 50% 付近になるような条件で実験を行う必要があった。このリスクがある選択肢とない選択肢の主観的な価値が等価となる条件（主観的等価点）は、事前に測定しておいた各 X における選択率を基にロジスティックモイド関数 ($f(x)=a+b/(1+\exp(-x-c)/d$)、 a 、 b 、 c 、 d は自由パラメーター) を Least-squares method でフィッティングさせ算出した (EXCEL のソルバー機能を使用)。各ギャンブル課題および異時点間選択課題でも同様に主観的等価点を算出し、主観的等価点もしくはそれに最も近い条件を用いて薬理実験における行動試験を行った。

各ラットにはそれぞれ全部で 4 つの薬理実験 (島皮質前部への Muscimol/Baclofen 注入、島皮質前部への生理食塩水注入、前頭眼窩野への Muscimol/Baclofen 注入、前頭眼窩野への生理食塩水注入) を行った。薬理実験は通常の実験条件の基準とする 5 セッション、薬剤注入を行った直後の 1 セッション、薬剤の効果が失われたと考えられる翌日の 1 セッションの連続した 7 セッションを 1 セットとして扱った。薬理実験は、基準となる 5 セッションにおける選択率が安定していることを確認した上で行った。リスクがある選択肢の選択率を 5 セッションについて算出し、その標準偏差の個体間平均を求めると、報酬量に関するギャンブル課題で 11.1%、報酬の遅延に関するギャンブル課題で 10.1%、異時点間選択課題で 10.4% だった。各薬理実験は最低でも 2 日以上間隔を空けて行った。またそれぞれの順番は個体間でランダム化した。

組織解析

全ての薬理実験が終了した個体はガイドカニューレおよび注入用カニューレの先端の位置を確認するため、麻酔下において灌流固定し脳を摘出した。固定した脳はその後 30% スクロース液を十分に浸透させた上で凍結させ、マイクロトームを用いて冠状断で 50 μ m の薄切片にした。薄切片はゼラチンコートしたスライドガラスに貼付け、十分に乾燥させた後チオニン染色した。注入用カニューレの先端位置は顕微鏡下で確認し、The rat brain (Paxions, 2007) を参考にどの領域にあるか同定した。

データ解析

統計解析には SPSS と Microsoft EXCEL を用いた。各ギャンブル課題および異時点間選択課題では個体毎に 4 つの行動指標 {選択率、反応時間、正答率、反応ミス数} を測定した。

詳細には、自由選択試行における選択率（ギャンブル課題ではリスクがある選択肢に対する選択率、異時点間選択課題では4滴得られるが遅延がある選択肢に対する選択率）、自由選択試行における反応時間（ノーズポークしてからレバーを押すまでの時間）、強制選択試行における正答率、セッション全体における反応ミス数である。術前の通常時の個体毎の平均選択率の算出には前述のように最新の12セッションから最大と最少を除外した10セッションを用い、またその他の3つの行動指標もその10セッションのものを用いて算出した。集団の選択率には個々の平均選択率の平均を用いた。チャンスレベル（50%）に対し有意に選択が偏っているかどうかは、One-sample *t*-test（有意水準 $p = 0.05$ ）を用いた検定を行った。

薬理実験では基準セッション（5セッションの平均）、薬剤注入セッション、翌日のセッションの3条件の間で選択率の比較を行った。まず One-way ANOVA（有意水準 $p=0.05$ ）を用い、post hoc に paired *t*-test（有意水準 $p = 0.05$ 、ボンフェローニ補正）を用いて各条件間を比較した。Muscimol/Baclofen 注入条件と生理食塩水注入条件間の比較には選択率の変化率（薬剤注入セッションにおける選択率－基準セッションにおける選択率）に対して paired *t*-test（有意水準 $p = 0.05$ ）を適用した。但し個体内変動をみるため、2条件が揃わない個体のデータに関してはこの解析から除外している（詳細は後述）。

Muscimol/Baclofen 注入条件と生理食塩水注入条件間での反応時間、正答率、反応ミス数比較では、反応時間と反応ミス数については paired *t*-test（有意水準 $p = 0.05$ ）を用いたが、正答率については正規分布していなかったためノンパラメトリックの Wilcoxon signed ranks test（有意水準 $p = 0.05$ ）を用いた。

薬理実験で薬剤注入の後に注入用カニューレに詰まりが確認された場合、および組織解析で注入用カニューレの先端が標的領域外にあった場合、そのデータは解析から除外した。その結果報酬の遅延に関するギャンブル課題には10匹用いたものの、島皮質前部への Muscimol/Baclofen 注入では $N = 9$ 、島皮質前部への生理食塩水注入では $N = 6$ 、前頭眼窩野への Muscimol/Baclofen 注入では $N = 7$ 、前頭眼窩野への生理食塩水注入では $N = 6$ となっている。但し解析から除外したデータを含めて検定した場合でもその結果は変わらなかった。

結果

2つのギャンブル課題におけるラットの行動

図 1-6A・B はそれぞれ報酬量に関するギャンブル課題 (N = 9)、報酬の遅延に関するギャンブル課題 (N = 10) においてラットがリスクがある選択肢を選んだ割合を示している。いずれの課題でも明らかにリスクがある選択肢を選ぶ必要がない場合、報酬量に関するギャンブル課題では $X = 4$ 、報酬の遅延に関するギャンブル課題では $X = 0$ の場合、ラットはリスクがない選択を適切に選択している。また逆に報酬の遅延に関するギャンブル課題において $X = 10$ の場合はリスクがない選択肢を選ぶ意味はないが、この場合においてもラットは適切な選択を示している。加えてリスクがない選択肢の条件 (X の値) によって選択率が変化していることから、ラットはリスクがある選択肢とない選択肢の中身を比較した上で選択を行っている と解釈できるだろう。

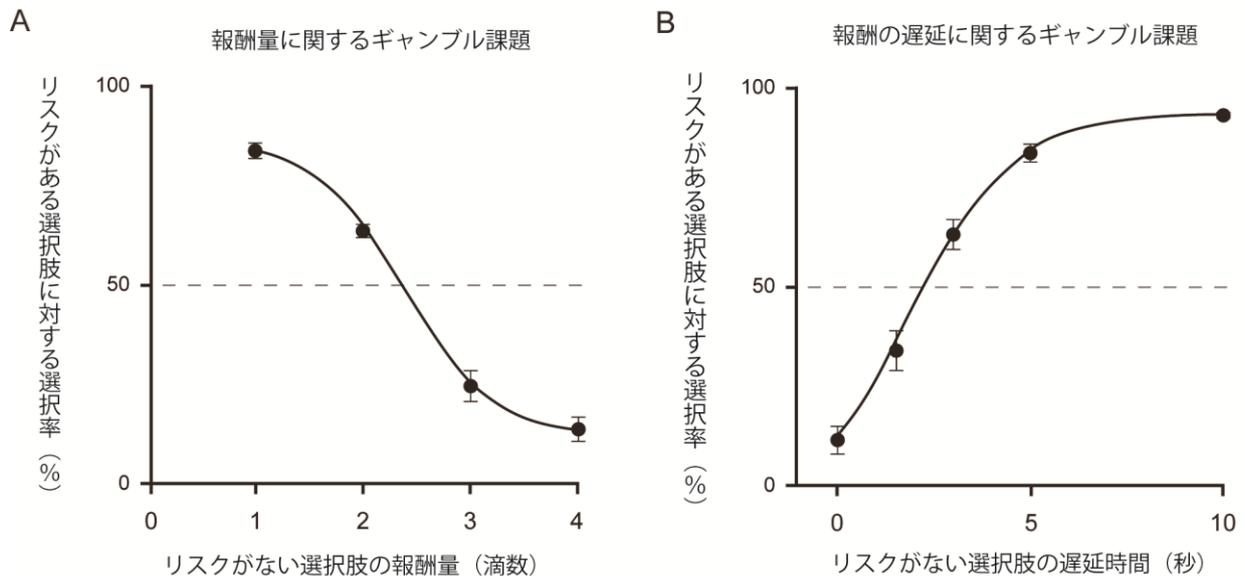


図 1-6. ギャンブル課題におけるラットのリスク選好性

報酬量に関するギャンブル課題 (A, N=9) と報酬の遅延に関するギャンブル課題 (B, N=10) における選択率。縦軸はリスクがある選択肢の選択率を示す。リスクがある選択肢とない選択肢の期待値が等価である時 (A では $x=2$ 、B では $x=5$)、両課題共ラットはリスクがある選択肢を好んで選ぶ傾向を示した。近似したシグモイド曲線を用いて主観的等価点を算出した結果、A では $x=2.4$ 、B では $x=2.3$ であった。エラーバーは SEM. を示す。

次にリスクがある選択肢とない選択肢の期待値が等価である場合、すなわち報酬量に関するギャンブル課題では $X = 2$ 、報酬の遅延に関するギャンブル課題では $X = 5$ の場合、ラットはどちらかの選択肢に対し選好性を示すのかどうか調べた。この場合セッション全体で見ると、どちらの選択肢を選んでも結果として得られる報酬量あるいは遅延時間は等しいので、ラットがどちらかの選択肢に対し選好性を持たない場合選択率は 50%になると考えられる。そこで One-sample *t*-test を用いて選好性を持たないと想定される選択率 50%に対し実際のラットの選択が有意に異なっているのかを調べた。その結果報酬量に関するギャンブル課題では 9 匹中 6 匹がリスク選好性を示し、3 匹は選好性を示さなかったことが分かった。また集団としては、リスクがある選択肢に対する選択率はチャンスレベルより有意に高かった ($60.5 \pm 3.1\%$, $t_{(8)} = 7.67$, $p < 0.05$)。一方報酬の遅延に関するギャンブル課題では 10 匹全てがリスク選好性を示し、集団としてもリスクがある選択肢に対する選択率はチャンスレベルより有意に高かった ($84.1 \pm 2.1\%$, $t_{(9)} = 16.14$, $p < 0.05$)。先行研究により、リスクがある選択肢とない選択肢の期待値が等価である場合、一般に動物は報酬量におけるリスクに対しては置かれた状況によって選好性を示す場合・忌避性を示す場合・関心を持たない場合があり、報酬の遅延におけるリスクに対しては一律に選好性を示すことが報告されており (Kacelnik and Bateson, 1996; Weber et al., 2004)、本研究の行動データはこの報告に一致している。よって本研究で用いた行動実験手法は他の研究に対し特殊な条件設定にはなっていないと考えられ、一般的な実験条件下でのラットのリスクを伴う意思決定を評価していると考えられる。

続いて各ギャンブル課題における主観的等価点 (選択率が 50%となる条件) を調べた。図 1-6A・B に書かれた近似曲線は実測の選択率にロジスティックシグモイド関数 ($f(x) = a + b / (1 + \exp(-x - c) / d)$)、 a 、 b 、 c 、 d は自由パラメーター) を Least-squares method でフィッティングさせたものである (いずれも $r^2 > 0.99$)。これらの近似曲線から主観的等価点を算出したところ、報酬量に関するギャンブル課題では $X = 2.4$ 、報酬の遅延に関するギャンブル課題では $X = 2.3$ であった。選択率がリスクがある選択肢ない選択肢のどちらかに大きく偏った条件で薬理実験を行うと、島皮質前部や前頭眼窩野の機能阻害によってその選択率が変化したとしてもその影響を不当に評価してしまう可能性がある。そこで以降の薬理実験では、公平に機能阻害による影響を評価できるよう、基準となる通常の実験条件が 50%付近になる条件を用いた。つまり、報酬量に関するギャンブル課題では主観的等価点に最も近い整数である $X = 2$ を用い、報酬の遅延に関するギャンブル課題ではそれぞれの個体毎の主観的等価点を用いた。

組織解析結果：ガイドカニューレおよび注入用カニューレ先端の確認

行動データを取得し終えた個体には、次に薬理実験で薬剤を局所注入するためのガイドカニューレ留置手術を施した。図 1-7 はガイドカニューレと注入用カニューレの跡の代表例(A)と各個体の注入用カニューレ先端の位置 (B) を示している。図 1-7A において、カニューレ痕の内太い部分がガイドカニューレ (外径 0.6mm)、その直下の細い部分が注入用カニューレ (外径 0.3mm) にあたる。本研究では島皮質前部および前頭眼窩野の亜領域については区別しなかったが、注入用カニューレの先端は、島皮質前部では背側無顆粒細胞層、前頭眼窩野では外側部 (但し腹外側部とされることも多い) に集中していた。報酬の遅延に関するギャンブル課題に用いた 1 個体で、右半球の島皮質前部を標的にした注入用カニューレの先端が標的領域外に位置していたため、この個体の島皮質前部に関するデータは解析から除外した。

図 1-7A の組織標本で見られるように、カニューレ痕以外に周辺組織の壊死は確認されなかった。従って薬剤の圧注入による組織破壊は生じなかった、あるいはほとんど生じなかったと考えられる。またガイドカニューレは運動野や感覚野の一部を通過していたが、術後特段の運動障害などは観察されなかった。術後の再訓練では、はじめ反応時間の低下が見られたが数セッション後には術前のレベルに回復した。おそらく長期間行動課題の訓練を行っていなかったことが主な原因であると考えられる。カニューレ留置に伴う組織損傷自体は課題遂行に大きな影響を与えるものではなかったか、あるいは術後の回復期間中に代償されたのだろう。いずれにせよ再訓練以降では行動課題のパフォーマンスに対する手術自体の影響は見られなかった。

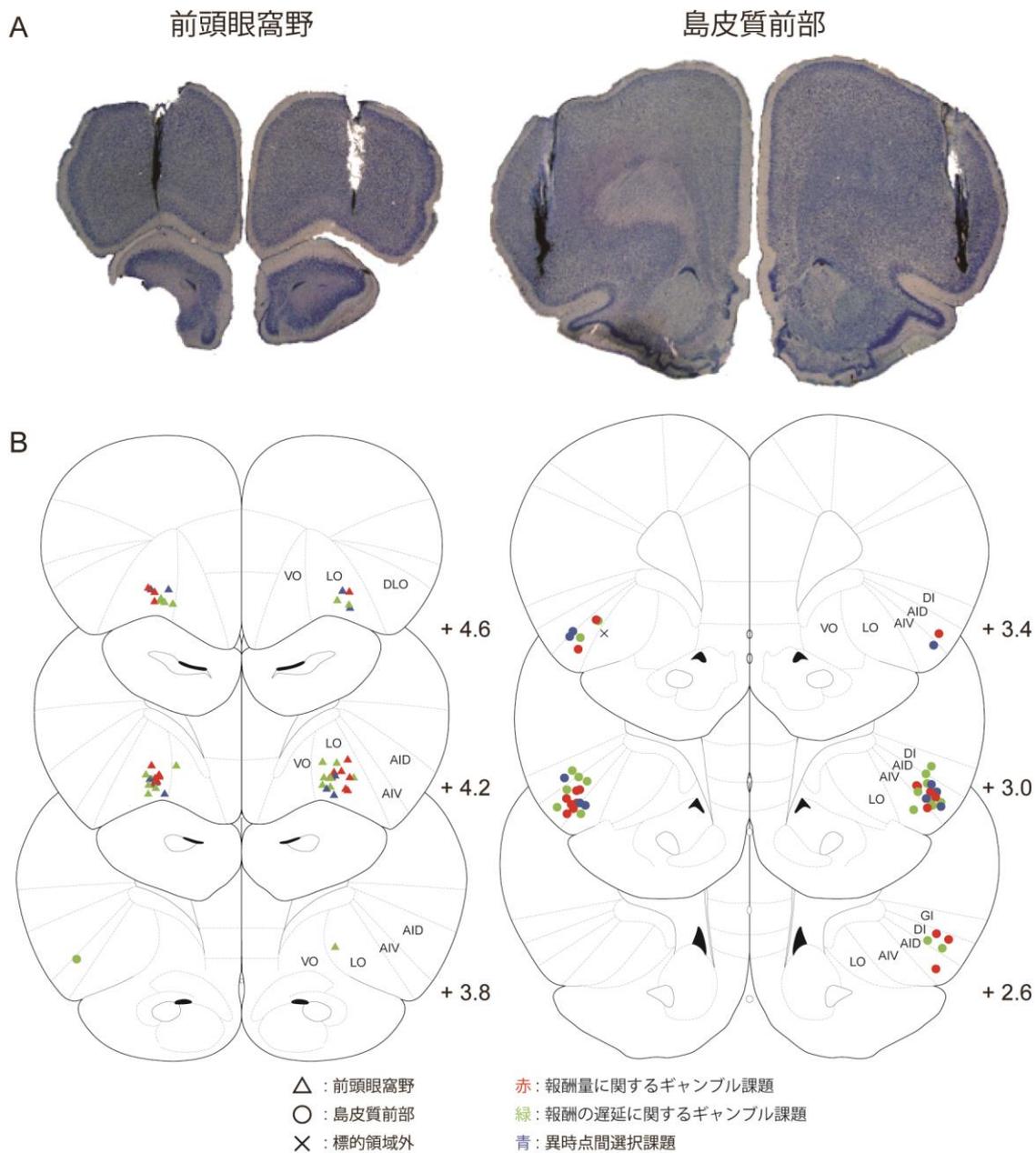


図 1-7. ガイドカニューレおよび注入用カニューレ先端位置の確認

ガイドカニューレと注入用カニューレが標的領域に挿入されていたか確認するため、実験終了後全てのラットの脳を摘出し薄切片を作製した。A は代表例で、薄切片はニッスル染色されている。B は注入用カニューレの先端位置を The atlas of the rat brain (Paxinos and Watson, 2007) にプロットしたものである。図中の英略号の意味は以下の通り。AID: dorsal agranular insular cortex, AIV: ventral agranular insular cortex, DI: dysgranular insular cortex, DLO: dorsolateral orbitofrontal cortex, GI: granular insular cortex, LO: lateral orbitofrontal cortex, VO: ventral orbitofrontal cortex

島皮質前部と前頭眼窩野の薬理的機能障害がリスク選好性に与える影響

ガイドカニューレ留置手術後再訓練を経て行動課題におけるパフォーマンスが術前レベルまで回復した個体には、次に薬理実験に向けて疑似注入操作を行った後にギャンブル課題を課するようにした。ここでの選択肢の条件設定、すなわちリスクがない選択肢の条件は、前述の行動試験で算出した主観的等価点に基づいて設定した。そして5セッション連続で安定した選択率を示した場合に薬理実験を行った（5セッションにおける選択率の標準偏差平均は報酬量に関するギャンブル課題で11.1%、報酬の遅延に関するギャンブル課題で10.1%だった）。

図1-8は、島皮質前部と前頭眼窩野へのMuscimol/Baclofenおよび生理食塩水注入が、各ギャンブル課題におけるラットのリスク選好性に与えた影響を示している。薬剤注入の影響を評価するにあたっては、リスクがある選択肢に対する選択率を基準セッション（5セッションの平均）、薬剤注入セッション、翌日のセッションの3条件の間をOne-way ANOVAおよびpost hoc paired *t*-test（ボンフェローニ補正あり）を用いて比較した。島皮質前部と前頭眼窩野への生理食塩水注入はいずれの課題においてもリスク選好性に影響を与えなかった（One-way ANOVAの検定結果；報酬量に関するギャンブル課題：島皮質前部、 $p = 0.69$ ；前頭眼窩野、 $p = 0.66$ ；報酬の遅延に関するギャンブル課題：島皮質前部、 $p = 0.66$ ；前頭眼窩野、 $p = 0.86$ ）。一方Muscimol/Baclofen注入はリスク選好性に影響を与えたが、その増減の方向性は注入部位によって異なり課題による違いはなかった。Muscimol/Baclofen注入による島皮質前部の機能障害はリスク選好性を減少させたが、反対に前頭眼窩野の機能障害はリスク選好性を増加させた（One-way ANOVAの検定結果；all $p < 0.05$ 、基準セッションと薬剤注入セッション間でのpost hoc paired *t*-testの検定結果；all $p < 0.05$ ）。

図1-8Cでは、薬剤注入によりリスクがある選択肢に対する選択率がどれほど変化したか（薬剤注入後のセッションにおける選択率－基準セッションにおける選択率）をMuscimol/Baclofen注入条件と生理食塩水注入条件間で個体毎に比較している。2条件間でのpaired *t*-testの結果、いずれのギャンブル課題においても有意差がみられた（ともに $p < 0.05$ ）。すなわち、島皮質前部と前頭眼窩野の機能障害は、同一個体においてもリスク選好性に相反する影響を与えており、またそれは課題に非依存的であった。尚、報酬量に関するギャンブル課題ではリスク選好性を示す個体と示さない個体の2種類がいたが、薬剤の影響はそれらの間で違いは見られなかった。

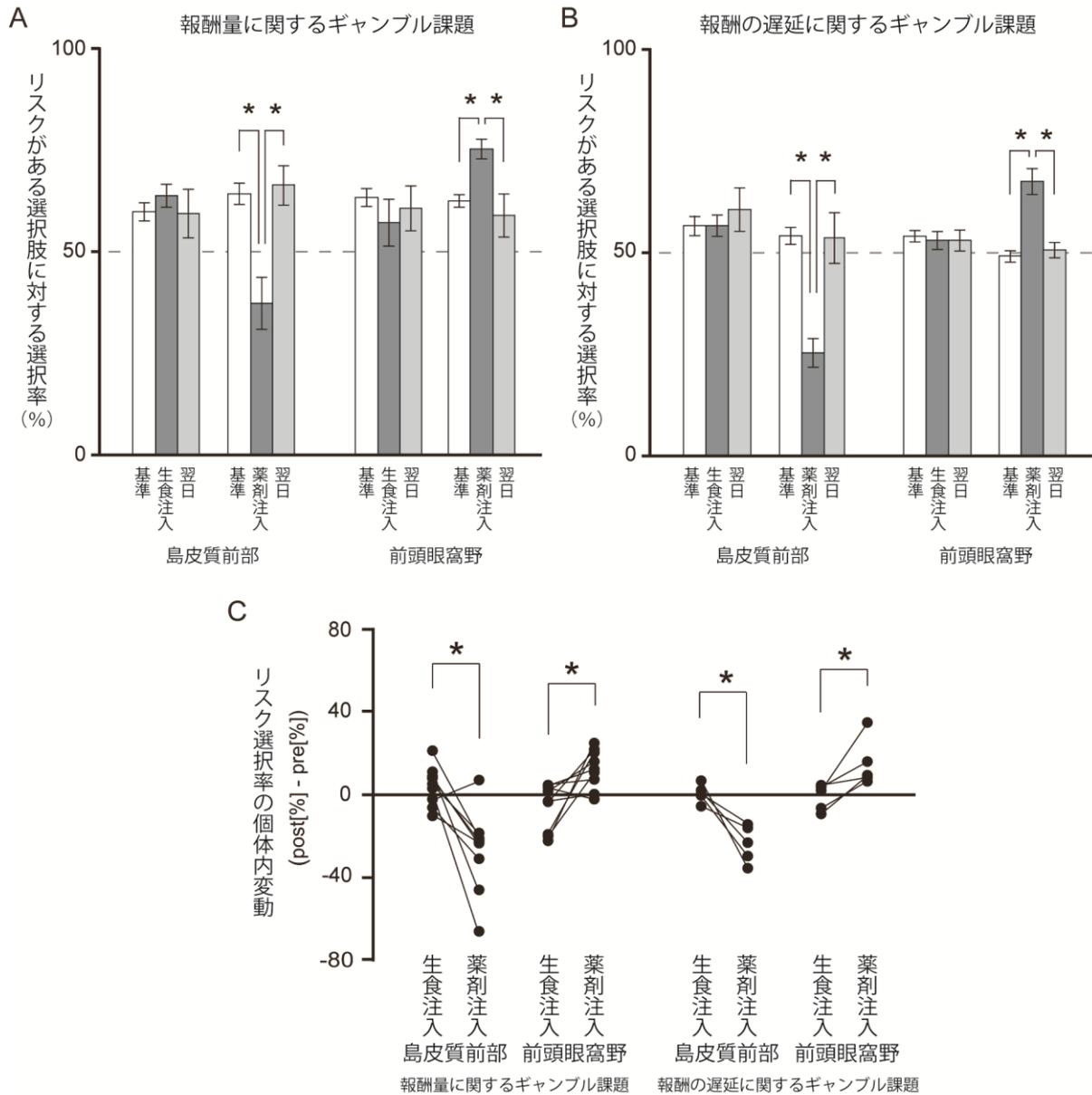


図 1-8. 島皮質前部と前頭眼窩野の不活性化がリスク選好性に与える影響

報酬量に関するギャンブル課題 (A)・報酬の遅延に関するギャンブル課題 (B) いずれにおいても、島皮質前部の不活性化はリスク選好性を減少させ、対して前頭眼窩野の不活性化はリスク選好性を増加させた。検定には ANOVA と post-hoc に t 検定を用い有意水準はボンフェローニ補正をし $p < 0.016$ とした。C はリスク選好性の個体内変動を示す。同一個体の不活性化時と生理食塩水注入時のデータは直線で結ばれている。検定は paired t 検定を用いた。各図の * は有意差、エラーバーは SEM。

次に薬剤の影響によるリスク選好性の変動がセッション内でどのように推移していたのか調べるため、100回の自由選択を25試行ずつ4ブロックに区切り、Muscimol/Baclofenおよび生理食塩水注入条件間でリスクがある選択肢に対する選択率を比較した(図1-9)。Repeated measures two-way ANOVA (Muscimol/Baclofen注入条件・生理食塩水注入条件×ブロック)では、各ブロック間で有意差は検出されなかった(all $p > 0.1$) また薬剤注入条件とブロックの相互関係においても有意差は検出されなかった(但し報酬量に関するギャンブル課題においては、前頭眼窩野では薬剤注入条件とブロックの相互関係の p 値は0.06であった)。リスク選好性に対する薬剤の影響はセッション内で変動しなかったと考えられる。

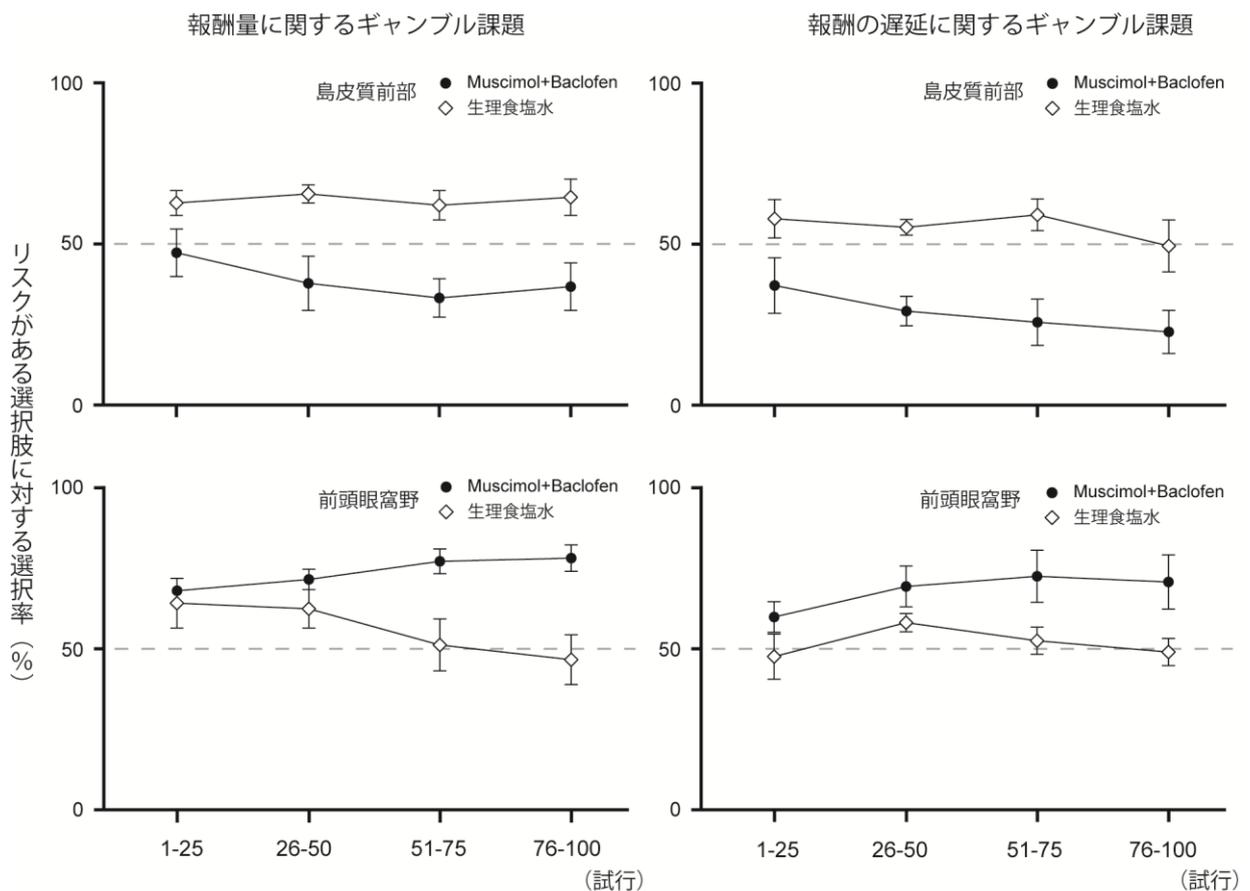


図1-9. 薬剤効果のセッション内変動は見られなかった

エラーバー：SEM.

リスク選好性以外への薬剤の影響：その他の行動指標に対する影響

前頭前野は計画・理解・判断・論理・記憶・注意・運動企画といった広範な認知（実行）機能に関わっていると考えられている（Fuster, 2008）。そこで島皮質前部と前頭眼窩野の機能阻害がリスク選好性以外に影響を与えていないかどうか調べるため、各ギャンブル課題における選択率以外の3つの行動指標に対する影響を調べた。学習期間にあたる40試行の強制選択において、その正答率には種々の認知機能が反映され、また自由選択試行における反応時間（ノーズポークしてからレバーを押すまでの時間）には主に運動機能や判断力、そしてセッション全体における反応ミス数には集中力が反映されると考えられる。これらを Muscimol/Baclofen および生理食塩水注入条件間で比較したものを表1に示す。

正答率について

強制試行では押すべきレバーを指定したものの、不正解のレバーも押すこと自体は可能であった（但し報酬は得られない）。また間違えた際に再び同じ条件の試行を繰り返す矯正試行も設定していなかったため、ラットは正誤を無視してどちらかのレバーのみを押し続け試

報酬量に関するギャンブル課題						
	島皮質前部			前頭眼窩野		
	生理食塩水	Mus+Bac		生理食塩水	Mus+Bac	
正答率 (%)	100 ± 0	99.8 ± 0.1	ns	100 ± 0	99.9 ± 0.1	ns
反応時間 (ms)	1260 ± 274	1560 ± 125	ns	1116 ± 156	1174 ± 91	ns
反応ミス数	0.56 ± 0.18	1.56 ± 0.50	ns	0.44 ± 0.18	1.00 ± 0.29	ns

報酬の遅延に関するギャンブル課題						
	島皮質前部			前頭眼窩野		
	生理食塩水	Mus+Bac		生理食塩水	Mus+Bac	
正答率 (%)	100 ± 0	100 ± 0	ns	100 ± 0	100 ± 0	ns
反応時間 (ms)	1027 ± 63	1356 ± 190	ns	1019 ± 48	1001 ± 86	ns
反応ミス数	0.33 ± 0.21	1.42 ± 0.48	ns	1.17 ± 0.48	0.67 ± 0.33	ns

値：平均 ± SEM, Mus+Bac: muscimol + baclofen, ns: 有意差なし

表 1. 正答率・反応時間・反応ミス数に対する薬剤の影響は見られなかった。

験段階に移行することが可能であった。したがって強制力は高くなかったため、様々な認知機能の障害によって正答率は大きく減少する可能性があった。すなわち正答率は認知機能障害に高い感受性を持っていたと言える。にもかかわらず島皮質前部と前頭眼窩野の機能阻害は正答率に影響を与えず、非常に高い正答率を維持していた（Wilcoxon signed rank test の検定結果；報酬量に関するギャンブル課題：島皮質前部、 $z = -1.41$ 、 $p = 0.16$ ；前頭眼窩野、 $z = -1.0$ 、 $p = 0.32$ ；報酬の遅延に関するギャンブル課題：島皮質前部、 $z = 0$ 、 $p = 0.10$ ；前頭眼窩野、 $z = 0$ 、 $p = 0.10$ ）。

反応時間について

前頭眼窩野の背側には二次運動野が位置しているため、注入した Muscimol/Baclofen がガイドカニューレの外壁に沿って漏れ出し、反応時間に影響を与える可能性もあった。しかしいずれの課題においても Muscimol/Baclofen および生理食塩水注入条件間で有意な差は見られなかった（paired *t*-test の検定結果；報酬量に関するギャンブル課題：島皮質前部、 $p = 0.07$ ；前頭眼窩野、 $p = 0.59$ ；報酬の遅延に関するギャンブル課題：島皮質前部、 $p = 0.15$ ；前頭眼窩野、 $p = 0.75$ ）。

反応ミス数について

ノーズポークをしておきながらレバーを押さなかった反応ミスは注意欠陥や判断力の低下によって生じ得る。しかし反応ミスはセッション全体を通して 1、2 回起きる程度で、こちらも薬剤注入による影響は見られなかった（paired *t*-test の検定結果；報酬量に関するギャンブル課題：島皮質前部、 $p = 0.07$ ；前頭眼窩野、 $p = 0.14$ ；報酬の遅延に関するギャンブル課題：島皮質前部、 $p = 0.22$ ；前頭眼窩野、 $p = 0.20$ ）。

対照実験：異時点間選択課題における島皮質前部と前頭眼窩野の薬理的機能阻害の影響

さらに島皮質前部や前頭眼窩野の薬理的機能阻害が報酬量や遅延時間の弁別そのものに影響する可能性や、リスクのあるなしに関係なく意思決定全般に影響する可能性を検証するため、異時点間選択課題を用いて同様の薬理実験を行った。図 1-10A は異時点間選択課題における通常の行動データである（ $N = 5$ ）。薬理実験ではギャンブル課題の時と同様にフィッティングした近似曲線を用いて個体毎に主観的等価点を求め（ $X = 5-7$ ）、その条件において薬剤注入の選択率への影響を調べた（図 1-10B）。島皮質前部と前頭眼窩野への Muscimol/Baclofen および生理食塩水注入は、いずれも選択率に影響を与えなかった（One-way ANOVA の検定結果；Muscimol/Baclofen 注入：島皮質前部、 $p = 0.56$ ；前頭眼窩野、 $p = 0.81$ ；生理食塩水注

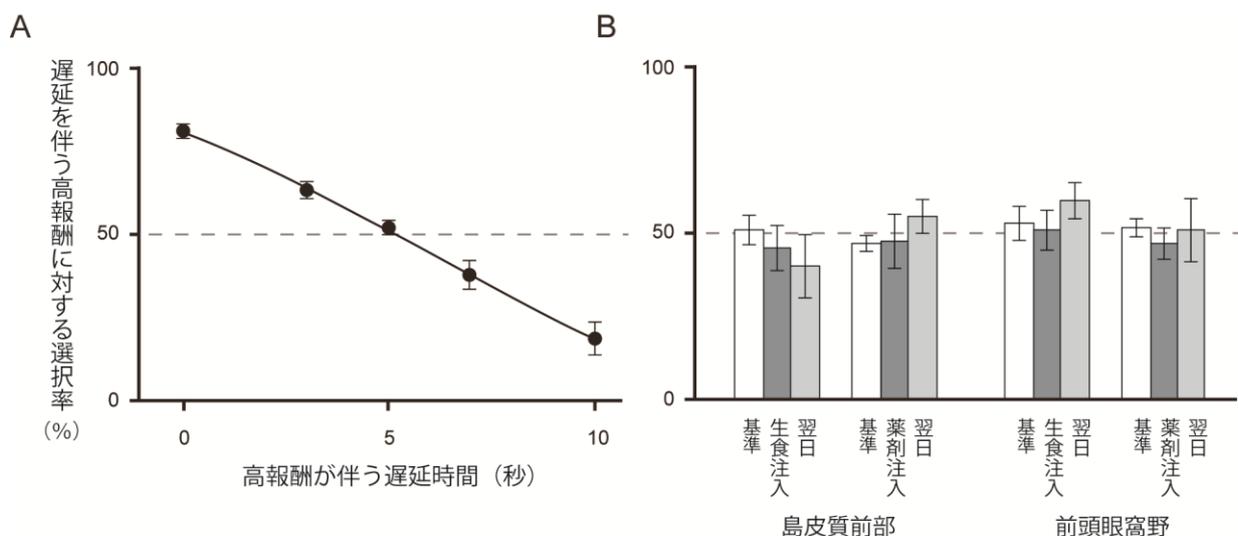


図 1-10. リスクを伴わない意思決定においては不活性化は影響を及ぼさなかった

異時点間選択課題における行動データ (A) と薬理実験の結果 (B)。低報酬 (2 滴) だが遅延がない選択肢と高報酬 (4 滴) だが遅延を伴う選択肢 ($x=0, 1.5, 3, 5, 10$) を選択させた。近似したシグモイド曲線から主観的等価点を算出し、薬理実験を行った。島皮質前部および前頭眼窩野の不活性化はいずれも選択率に影響を与えなかった。図のエラーバーは SEM を示す。

入：島皮質前部、 $p = 0.56$ ；前頭眼窩野、 $p = 0.51$ ）。

異時点間選択課題では、報酬量に対する価値形成と報酬の遅延に対する価値形成、およびそれらの相互関係が選択率に与える重要な要素であり、島皮質前部や前頭眼窩野の薬理的機能阻害によっていずれかに影響が出れば、結果として選択率が変化すると考えられる。もちろん報酬量に対する価値形成と報酬の遅延に対する価値形成に対し同時に影響を及ぼした場合には、効果が打ち消し合いそれらの影響が検出されない可能性も考えられる。例えば、報酬の量に対する感受性が低下した場合には遅延の短さが優先され“量は少なくともすぐに得られる選択肢”に誘引されるようになるだろう。一方報酬の遅延に対する感受性が低下すると遅延の長さは無視され量が優先されるため、“遅延があっても多くの報酬が得られる選択肢”に誘引されるようになるだろう。もしこれらの効果が同時に生じた場合には効果が相殺されてしまう。だがこのような場合には報酬量や報酬の遅延に対する弁別課題の成績に影響が生じるはずである (感受性の低下に伴い弁別の成績は下がる)。しかし予備実験において、島皮質前部や前頭眼窩野の薬理的機能阻害は報酬量や報酬の遅延に対する弁別課題の成績に影響を与えなかったことから、そのような可能性は低いと考えられる。

考察

先行研究では、リスクを伴う意思決定に活動相関を示す領域として、前頭前野背外側部や腹内側部、前頭眼窩野、島皮質、帯状回、側坐核、扁桃体など、様々な脳領域が報告されてきた (McCoy and Platt, 2005; Tom et al., 2007; Rangel et al., 2008; Venkatraman et al., 2009; Mohr et al., 2010)。しかしそれらの領域がどのような役割を担っているのかについて、特にその因果関係については未だ不明な点が多い。本研究では島皮質前部や前頭眼窩野の機能がリスクを伴う意思決定と因果関係を有するか否かに着目した。そしてギャンブル課題遂行時のラットをモデルとして、島皮質前部の機能障害がリスク選好性を減少させ、前頭眼窩野の機能障害がリスク選好性を増加させることを見出した。

この結果がリスクを伴う意思決定に限定されているか否かの判断のために、用いた行動課題の遂行に要する意思決定以外の認知プロセスに対する実験操作の影響の有無について以下に述べる。最も単純には、ルールに基づく抑制的な行動制御が損なわれれば強制選択試行を正しく遂行することが困難になり、与えた2つの選択肢について均等に経験できず、結果として選択がどちらかに偏ってしまう可能性がある。しかし島皮質前部と前頭眼窩野の機能障害は、強制選択試行における正答率には影響を与えていなかった。また反応時間や反応ミス数などにも影響を与えていなかったことから、機能障害によるリスク選好性の変化は、この可能性を含め課題遂行自体に必要な認知プロセスの障害による結果ではないと考えられる。さらに別の可能性として、報酬量や遅延時間そのものに対する感受性の変化が挙げられる。例えばリスクがない選択肢で得られる報酬量でも十分に満足できると感じるようになればリスクを回避するようになるだろうし、少なすぎると感じるようになればリスクを冒すようになる。これは本質的にはリスクのあるなしとは関係がない。しかしこの仮説は、機能障害が異時点間選択課題においては影響がなかったことで棄却されるだろう。機能障害が2種のギャンブル課題においても同様の効果をもたらしたことも、この仮説の棄却を支持している。さらに異時点間選択課題における結果はもう一つ重要な点を示唆している。すなわち島皮質前部や前頭眼窩野の機能障害はリスクを伴わない意思決定には影響を及ぼさなかったということである。よって、島皮質前部や前頭眼窩野は、意思決定全般というよりは、リスクを伴う意思決定において特に重要な役割を果たすと結論付けられる。その上で最も重要な発見は、リスク選好性に対する機能障害の効果が島皮質前部と前頭眼窩野で反対であったことである。

島皮質前部はリスク選好性を促進する

これまでヒトを対象にした脳機能イメージング研究によって度々、島皮質、特に島皮質前部がリスクを伴う意思決定に関与している可能性が示唆されてきた (Paulus et al., 2003; Kuhnen and Knutson, 2005; Preuschoff et al., 2008; Clark et al., 2010; Xue et al., 2010; Burke & Tobler, 2011; Burke et al., 2013)。本研究ではその因果的役割を示すとともに、島皮質前部がリスク選好性を促進する機能を有することを明らかにした。島皮質前部がリスク選好性を促進するという説は、先行研究において報告されているいくつかの知見とも一致する。例えば島皮質はリスクがない選択肢を選ぶ際に比べリスクがある選択肢を選ぶ際に強く賦活化する (Paulus et al., 2003)。そしてこのようなリスク選択時における島皮質の賦活化は、前の選択でリスクを回避していた場合により高くなる (Xue et al., 2010)。またスロットマシンゲーム遂行中のプレイヤーの脳活動を調べた研究では、絵柄が全くのばらばらであった場合よりももう少し揃った場合の方が島皮質の活動が大きく、その活動の大きさはゲームを続けたいというプレイヤーの欲求度合と相関することが報告されている (Clark et al., 2010)。これらはリスク選好性を促進する島皮質前部の働きを反映したものである可能性が考えられる。

ではリスク選好性を促進する島皮質前部の機能はどのようなプロセスによって生み出され、どのような状況で発揮されるのだろうか。意思決定において重要な役割を果たすプロセスの一つとして、Damasio によりソマティックマーカー仮説が提唱されている (Damasio, 1996)。ソマティックマーカー仮説とは、意思決定の際各選択肢に対する無意識下の快・不快情動が選択にバイアスを掛けるという説である。一方 Craig は、島皮質前部が島皮質後部、扁桃核、海馬と解剖学的に結合関係を有する事実を基に、島皮質前部は島皮質後部で統合された感覚情報に情動情報と過去の経験を付加し、内受容感覚を表現しているという説を提唱した (Craig, 2003; Craig, 2009)。結果が予測できるリスクがない選択肢を選ぶ時よりも、より大きな報酬を得られるか逆に損失を被るか分からないリスクがある選択肢を選ぶ時の方が情動反応は大きいと考えられる。前述の Paulus らの研究 (Paulus et al., 2003) において見られたリスク選択時の高い島皮質の賦活化は、そうした情動的身体状態を反映していた可能性もある。Naqvi と Bechara はソマティックマーカー仮説と Craig の説を融合させた説を提唱した (Naqvi and Bechara, 2009)。その説では過去の経験が現在の意思決定に及ぼす影響に着目し、意思決定の結果によってもたらされた強い情動的経験が島皮質で表現され、再び次に同様の場面に遭遇した場合にその内受容感覚が島皮質前部で再表現され、意思決定に影響を及ぼすという。実際に Paulus らや Xue らの研究では、以前の選択においてリスクを冒して利益

を得た場合と損失を被った場合で、次の選択における島皮質の活動が異なっていたと報告されている。

ただしソマティックマーカー仮説を含むこれらの解釈では、快情動と不快情動における作用の違いについて言及されていない。もし島皮質の損傷により情動的状態あるいは内受容感覚を意思決定に生かすプロセス全般が損なわれるとすると、特定の嗜好を持つようになるというよりはむしろ選好性がなくなると考えられる。しかし本研究では、島皮質前部の不活性化によりラットはリスク回避性を示すようになった。これは島皮質前部が意思決定における快・不快情動のプロセスにおいて、快と不快のどちらかに偏った反応特性を持っている可能性を示唆している。過去の経験と現在の選択の関係性という側面で先の島皮質前部の不活性化の実験結果を解析してみると、前の試行でリスクがある選択肢を選んで報酬が得られなかった場合、次の試行で再びリスクがある選択肢を選ぶ割合が島皮質前部の不活性化により通常時と比べ有意に減少していることが分かった。これは島皮質前部が過剰な損失回避を抑制することで、リスク選好性が促進された可能性を示唆している。fMRI を用いた Paulus ら (2003) や Kuhnen と Knutson (2005) の研究においても、損失回避に 관련된 島皮質の賦活化が報告されている (但し、彼らは島皮質の機能に関して我々とは反対の解釈を行っている)。しかし一方で他の研究では島皮質前部は快情動に関するプロセス、すなわちより良い報酬への期待あるいは欲求を生み出すのにも関与しているとも言われている。例えば脳卒中により島皮質を損傷した喫煙者は損傷後タバコに対する中毒症状が低下することが知られているし、ラットを用いた動物実験においても島皮質の不活性化によりアンフェタミンを条件付けた場所への滞在時間が減少することが報告されている。これはタバコやアンフェタミンそのものに対する嗜好性が失われたのではなく、それを摂取しようとする動機・欲求が生じにくくなったと解釈されている。もちろん損失回避の抑制と利得探求の促進は共に結果としてリスク選好性を増加させることから、2 つに機能的な矛盾はなく、リスクを冒すという選択を行う上で島皮質前部がこの 2 つのプロセスを駆動させているという可能性は十分に考えられる。

リスクを伴う意思決定における島皮質前部と前頭眼窩野の相反する作用

本研究では島皮質前部の機能阻害実験と並行して前頭眼窩野の機能阻害実験も行った。これには 2 つの意図があった。1 つは先行研究を再現することで、本実験系の技術的な正当性を確認するとともに、本実験で得られた結果が先行研究のものと比較できることを保証する

ためである。もう 1 つは同一個体でかつ同一の実験手法で 2 領域の機能阻害効果を比較することで、島皮質前部と前頭眼窩野の機能的差異を明確にするためである。

リスクを伴う意思決定における前頭眼窩野の重要性については古くから臨床において着目されており、Bechara らはそのことを前頭眼窩野損傷患者を対象にアイオワギャンブル課題を用いて実験的に示した。前頭眼窩野破壊がもたらす異常なリスク選好性については、ラットをモデルとした実験系においても確かめられている (Pais-Vieira, et al., 2007)。また脳機能イメージング研究では、健常者においても前頭眼窩野がリスクを伴う意思決定を行う際賦活化することが確かめられた (Rogers et al., 1999b; O'Doherty, et al., 2011)。さらに Tobler ら、は前頭眼窩野外側部の活動量が個々人のリスク忌避の度合と相関することを見出した (Tobler, 2007)。これらの先行研究から、前頭眼窩野はリスクを伴う意思決定において近視眼的な利得に惑わされず長期的な利得の見積りを行うのに重要であり、すなわちリスク選好性を抑制する機能を有すると考えられる。

今回の研究、そしてこれまでの研究から、リスクを伴う意思決定において島皮質前部はリスク選好性を促進するネットワーク、そして前頭眼窩野はリスク選好性を抑制するネットワークに属する可能性が考えられる。この 2 領域は機能的には対極に位置していると考えられるが、実際にどのような接続関係にあるのかは不明である。解剖学的には直接の結合関係を有している (Van De Werd and Uylings, 2007) ことから直接拮抗している可能性もあるが、2 領域とも側坐核に投射している (Reynolds and Zahm, 2005; Hoover and Vertes, 2011) ことから間接的に影響を及ぼし合っている可能性もあるだろう。

このような可能性については今後薬理学的手法に加えて電気生理学的手法を組み合わせ、高い時間解像度で神経活動のダイナミクスを捉えつつ相互の神経活動への影響、および実際の選択との因果関係を示すことで検証が可能になると期待される。過去の fMRI や電気生理学的手法を用いた研究では、各脳領域がリスクを伴う報酬情報をどのように表現しているかという観点から、選択肢の分散や期待値をパラメトリックに変化させることで脳活動がリスク (分散) に対して相関しているかどうか調べられてきた。Tobler ら (2007) は、前頭眼窩野外側部の活動量は報酬が伴うリスクの大きさに相関しており、報酬の期待値自体は線条体に表現されていることを示している。(Oyama ら (2010) の単一神経活動記録法を用いた研究においても、線条体には期待値に関する情報を表現するものは多く見つかったものの、リスクに関する情報を表現するものはなかったと報告されている)。また O'Neill と Schultz は、サルを対象に単一神経活動記録により、前頭眼窩野に期待値ではなくリスクの大きさに

関連した活動の変化を示すニューロンがあることを報告している (O'Neill and Schultz, 2010)。一方島皮質前部においても、リスクにおける歪度に対する神経相関 (Burke & Tobler, 2011) やリスクの予測や予測誤差に対する神経相関 (Preusschoff et al., 2008) が見られることが報告されている。しかしこれらは島皮質前部や前頭眼窩野がリスクを伴う報酬情報の処理に関与する重要な証拠ではあるが、自由選択課題を用いたものではなく意思決定における役割を直接示すものではない。今のところおそらく唯一、Roitman らにより、自由選択課題を用いてリスク選択に関連する神経活動の記録を行った研究が報告されている (Roitman and Roitman, 2010)。彼らはギャンブル課題遂行中のラットの前頭眼窩野から神経活動を記録し、リスクを嗜好するラットとそうでないラットでは選択の結果に対する神経応答が異なることを報告している。著者は 2013 年、所属研究室の大学院生であった高橋勝平氏と共同で、本研究で用いたギャンブル課題中におけるラットの島皮質前部の単一神経活動記録を行った。島皮質前部のほとんどの単一神経活動は行動課題のイベント { 選択を行う期間、報酬が与えられるまでの期間、実際に報酬が与えられた後の期間 } のいずれかもしくは複数に反応を示し、さらにその中の多くがリスクがある選択肢を選んだ場合とリスクがない選択肢を選んだ場合で異なる活動を示した。特にリスクがある選択肢を選ぶ直前に特異的に発火頻度が増加 (あるいは減少) する単一神経活動が発見されたことは、傍証ではあるが、島皮質前部が実際の意思決定そのものに深く関与していることを示唆しているように思われる。今後は島皮質前部と前頭眼窩野の単一神経活動の同時記録を行うとともに、一方の領域の薬理的な不活性化が他方の領域の活動に与える影響について調べていく予定である。これによりリスクを伴う意思決定において島皮質前部と前頭眼窩野が互いにどのように影響を及ぼし、そしてどのようにしてリスクを冒すべきか回避すべきかが決まっていくかが明らかにされると期待される。

結び

本研究では島皮質前部に着目してリスクを伴う意思決定におけるその役割について研究を行った。その結果島皮質前部にはリスク選好性を促進する機能があることが明らかとなった。しかしリスクを伴う意思決定に関わる脳領域は島皮質前部、あるいは前頭眼窩野だけではなく、例えば前頭前野背外側部や腹内側部、帯状回、側坐核、扁桃体なども重要な役割を担っていることが示唆されており、実際にはその全容は遥かに複雑であると考えられる。今後は、ある一つの脳領域の機能を個別に調べるだけでなく、それぞれの領域の関係性、つまりシステムとしてどのように意思決定がなされているのかに迫ることが重要になってくるであろう。

第2章 ドーパミンとセロトニンによるリスクを伴う意思決定における島皮質前部と前頭眼窩野の機能調節

背景と目的

リスクを避けて無難にいくか、勝負に出てリスクを取るか、2つの戦略を我々の脳は巧みに使い分けバランスを取っている。第1章で述べてきたように、その意思決定に係る脳領域の機能に異常をきたせば、バランスは崩れ異常なリスク選好性あるいは忌避性が引き起こされてしまう。一方、かかる多様な脳領域の機能を広範囲に調節する神経伝達物質もまた意思決定にバイアスをかける重要な役者である。中でもドーパミンとセロトニンはリスクを伴う意思決定に非常に重要な影響を及ぼすと考えられており、実際これらのシステムに異常をきたすと過度なリスク選好性・忌避性が引き起こされることが知られている。

ドーパミンに関しては例えばヒトでは、アイオワギャンブル課題においてドーパミンレベルの低いプレイヤーは高いリスク選好性を示す (Sevy et al., 2006) という研究報告や、臨床においても賭博依存症の治療としてドーパミン受容体のアゴニストが使用されることがある (Imamura, et al., 2006) という例が挙げられるだろう。動物実験においても、アンフェタミン投与によってラットのリスク選好性が増し、またこの効果は D_1 および D_2 受容体のアンタゴニストの投与によって打ち消されること (St Onge and Floresco, 2009)、ドーパミン作動性ニューロンの $GABA_A$ 受容体を欠損させた遺伝子改変マウスは高いリスク選好性を示すこと (Parker et al., 2011) が報告されている。残念ながら先に挙げたヒトを対象にした2つの研究と後者の動物を対象にした2つの研究ではドーパミンのリスク選好性に対する作用が対照的であり、一見矛盾するように思われる。この原因の可能性については後述するが、少なくともこれらの研究例はドーパミンがリスクを伴う意思決定に大きな影響を及ぼすことを示している。

一方セロトニンに関しては、一般にセロトニンレベルが高いほどリスクを忌避する傾向が見られるように思われる。例えばセロトニントランスポーター遺伝子にショートタイプのアリルを持つ人はロングタイプのアリルを持つ人に比べ経済的なリスクを忌避する傾向がある (Kuhnen and Chiao, 2009)。またサルを用いた実験においては、トリプトファン欠乏食を給餌することで一時的にセロトニンレベルを低下させるとリスク選好性が増すことが報告されている (Long et al., 2009)。これは同様の手法を用いてラットにおいても確認されている (Koot et al., 2012)。

ところで前述したようなこれまでの研究では、脳全体（あるいは全身）のドーパミン・セロトニンレベルを操作することでこれら2種の神経伝達物質がリスクを伴う意思決定において重要な役割を果たすことを明らかにしてきた。しかし本来の生理的なメカニズムを知る上では、脳全体の神経伝達物質レベルを一括して操作する手法には問題点もあった。というのも同じドーパミン作動性ニューロンあるいはセロトニン作動性ニューロンであっても機能的に異なるネットワークに属するグループがいくつもあると考えられ、それらの差異を無視してしまうからである。例えば黒質緻密部にあるドーパミン作動性ニューロンは主に線条体に、腹側被蓋野にあるドーパミン作動性ニューロンは大脳新皮質や大脳辺縁系に投射することが知られているが、前者はより運動に、後者はより認知や情動にかかわりの深いネットワークに属すると考えられる。またドーパミン・セロトニンいずれもニューロンに対する作用効果が異なる複数の受容体サブタイプが存在し、どのサブタイプがどれほど発現しているかは脳領域によって異なる点も無視できない。従ってドーパミンやセロトニンの役割を知る上では、これらの神経伝達物質が当の標的の脳領域においてその機能をどのように調節しているのかについて調べる必要がある。そこで近年では特定の脳領域局所的に受容体サブタイプ選択的薬剤を投与する方法が取られている。例えば St Onge らのグループはラットの内側前頭前野に D₁ 受容体阻害剤と D₂ 受容体阻害剤を投与し、前者はリスク選好性を減少させ後者は増加させることを報告した (St Onge et al., 2011; 但し Mai and Hauber, 2012 も参照されたい)。これは同じ神経伝達物質が放出されたとしても受容されるサブタイプが違えば最終的に行動に及ぼす影響も大きくことなることを示している。

そこで本研究では受容体サブタイプにも着目しながら、第1章で対照的な機能を有することが分かった島皮質前部と前頭眼窩野を、ドーパミンとセロトニンがどのように調節しているのかについて調べた。解剖学的には島皮質前部は中脳ドーパミン作動性ニューロンから非常に多くの投射を受けているのに対し、前頭眼窩野は比較的少ないかほとんど受けていないと考えられている (Berger et al, 1976; Berger et al, 1991; Ohara et al, 2003; Van De Werd and Uylings, 2009)。これは mRNA の発現分布とも一致しており、島皮質前部には D₁ 受容体と D₂ 受容体の mRNA の発現が非常に明確に見られるのに対し、前頭眼窩野にはほとんど見られない (Santana, 2009)。従ってまずドーパミンに関しては、これらの受容体サブタイプ選択的阻害剤を島皮質前部に局所投与した場合にはリスク選好性に何らかの影響が出る可能性があるが、前頭眼窩野に投与した場合には影響が出ないと予想される。一方縫線核のセロトニン作動性ニューロンは島皮質前部と前頭眼窩野いずれにも投射しており (Linley et al.,

2013)、また 5-HT_{1A} 受容体と 5-HT_{2A} 受容体の mRNA も両領域で発現している (Santana, 2004) ことから、セロトニン受容体サブタイプ選択的阻害剤は島皮質前部・前頭眼窩野いずれの領域においてもその機能に影響を及ぼす可能性があると思われ。

過去の選択の結果が現在直面する意思決定に及ぼす影響 (履歴効果と呼ぶ) という観点においては、近年ドーパミンが成功体験のフィードバックに、対してセロトニンが失敗体験のフィードバックにより強く関与しているのではないかと考えられている (Cools et al., 2011; Rogers, 2011)。実際ヒトのドーパミン受容体とセロトニン受容体の遺伝子多型に着目した研究ではドーパミンが過去の評価への固執に関係が深かったのに対し、セロトニンは失敗体験を基にした選択の切り替えに関係が深かったことが報告されている (den Ouden, et al., 2013)。本研究ではこのような点におけるドーパミンとセロトニンの機能差についても言及する。

材料と方法

実験概要

リスクを伴う意思決定における島皮質前部と前頭眼窩野の機能をドーパミンとセロトニンがどのように調節しているのか調べるため、4つの代表的な受容体サブタイプ、D₁受容体・D₂受容体・5-HT_{1A}受容体・5-HT_{2A}受容体の阻害剤を用い、各阻害剤の局所注入がラットのリスク選好性に与える影響を調べた。行動課題は第1章で用いた報酬量に関するギャンブル課題のみを用いた (以下単にギャンブル課題と呼ぶ)。被験体もアルビノの Wistar 系ラット雄 (体重 250g-310g) 34 匹を用い、飼育管理方法に関しても第1章と同様である。また薬理実験の手法に関しても使用する薬剤およびそれに関連する手続き以外は第1章で用いたものと同様のものを用いた。また今回は報酬量の違いを弁別させる課題を用いた対照実験を行い、ギャンブル課題における薬理実験でリスク選好性に影響を与えた薬剤が報酬量の弁別能力そのものに影響を与えていないかどうか確認した。

被験体・行動実験装置・行動課題の訓練・ギャンブル課題・手術・薬剤注入手順・組織解析・行動データ解析については第1章を参照されたい。但し以下の点について第1章のものから変更した。

ギャンブル課題について

第1章においては2種類のギャンブル課題を用いることによって実験結果の一般性について検証した。その結果いずれの課題においても同様の結果が得られた。そこで第2章では報酬量に関するギャンブル課題のみを用いた (第2章では単にギャンブル課題と呼ぶ)。

行動データの採用方法について

第1章では各Xの条件において12セッション以上試験し、最新12セッションの内リスクがある選択肢を選んだ割合が最大であったものと最少であったものを除外した10セッションの平均を最終的な選択率とした。しかしプロトコルの確立によってセッション間でのラットの行動が安定するようになったため、第2章では単に最新10セッションの平均を用いた。

薬理実験における基準セッションについて

第1章では基準セッションとして直前の5セッションの平均を用いたが、第2章ではで直近の1セッションを基準セッションとした。ただしこの変更による統計的な有意差の有無に変化はなく、また第1章と同様薬理実験は直前の5セッションにおける選択率が安定していることを確認した上で行った。

薬剤

各受容体選択的阻害剤として以下のものを用いた。D₁受容体阻害剤：R-(+)-SCH23390 hydrochloride (2.0, 4.0 µg/µl)、D₂受容体阻害剤：eticlopride hydrochloride (2.0, 4.0 µg/µl)、5-HT_{1A}受容体阻害剤：WAY100635 (2.0, 4.0 µg/µl)、5-HT_{2A}受容体阻害剤：M100907 (0.2, 2.0 µg/µl) (全てSIGMA)。いずれも0.9%生理食塩水(大塚製薬)に溶解し各濃度に調整した。但しM100907に関してはLactic acidを1、2滴加えて生理食塩水に溶かした。本研究の目的は薬剤の濃度依存的な効果を調べることではないため、先行研究(Fujita *et al*, 2008; Robinson *et al*, 2008; Furr *et al*, 2012; St Onge *et al.*, 2011)と予備実験を参考に十分に効果が得られると考えられる濃度、およびそれよりも高濃度の2条件で実験を行った。注入量は第1章と同様各半球100 nlとした。

対象とする2領域につき、受容体サブタイプ選択的阻害剤4種類を2つの濃度条件で投与し、さらにコントロール(生理食塩水のみ)処理を加えると合計9つ試験条件が存在する。全ての試験条件について同一の個体で実験すると、薬剤注入の繰返しによる組織へのダメージの蓄積が生じる恐れがあるため、1領域につき最大で3条件まで試験することとした。一般に脳内への注入実験では3回までが正常に試験できる回数とされている。また反復して試験する際には薬剤の効果が次の薬理実験にまで持続する可能性を排除するため、2日以上間隔をあげ、かつリスク選好性が薬剤を注入する前のベースラインレベルまで戻っていることを確認してから次の薬理実験を行った。さらにテストする薬剤の順番は個体間でランダムマイズし、試験回数そのものの効果やテストする薬剤の順番依存的な効果を疑陽性として検出してしまう可能性を排除した。

結果

ギャンブル課題におけるラットの行動

ギャンブル課題におけるラットの選択行動は第1章のものと同じ傾向であった。図2-1は本実験で用いたラット34匹の行動データを示している。リスクがある選択肢とない選択肢の期待値が等価であった場合 ($X=2$) には、26匹がリスクがある選択肢を有意に好む傾向を示し ($66.2 \pm 1.2\%$) 8匹が選好性を示さなかった ($56.4 \pm 2.3\%$)。全体としてはリスクがある選択肢を有意に好む傾向があった ($63.9 \pm 1.3\%$, $t[33] = 10.71$, $p < 0.05$ 。いずれも One-sample t -test を用いて選好性を持たないと想定される選択率 50% に対し実際のラットの選択が有意に異なっているのかを調べた)。以降の薬理実験で用いる主観的等価点を算出するため、実測の選択率にロジスティックシグモイド関数 ($f(x)=a+b/(1+\exp(-x-c)/d)$ 、 a 、 b 、 c 、 d は自由パラメーター) を Least-squares method でフィッティングさせたところ ($r^2 > 0.99$)、第1章同様 $X = 2.4$ であった。よって薬理実験においては主観的等価点に最も近い整数である $X = 2$ を用いた。

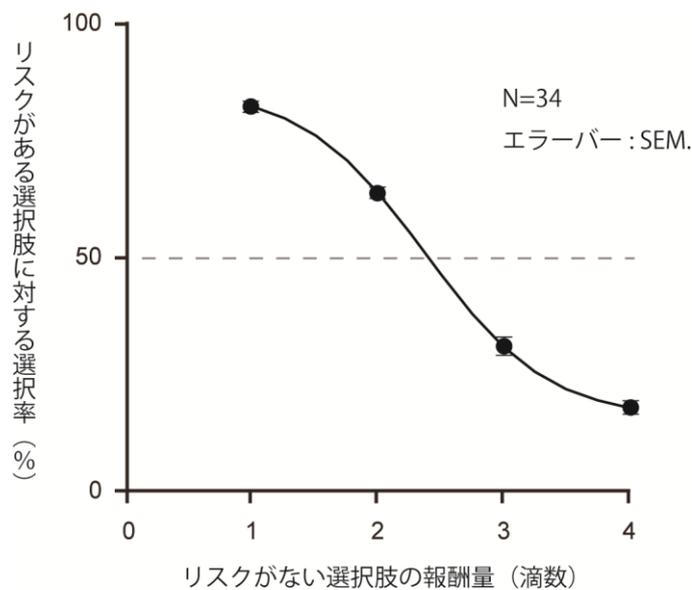


図2-1. ギャンブル課題における行動データ

組織解析結果：ガイドカニューレおよび注入用カニューレ先端の確認

図 2-2 はガイドカニューレと注入用カニューレの跡の代表例 (A) と各個体の注入用カニューレ先端の位置 (B) を示している。組織へのダメージはカニューレ痕に限定されており、薬剤注入の繰り返しによる組織の壊死などの影響は見られない。またいずれの薬剤試験条件においても薬理実験の翌日に行ったセッションでの選択率は薬剤注入前の基準セッションにおける選択率と有意な差はなかった (基準セッションと翌日のセッション間で *paired t-test* を用いて比較したところ全ての *p* 値は 0.05 を上回った)。よって薬剤の効果は翌日以降には影響しなかったと考えられる。

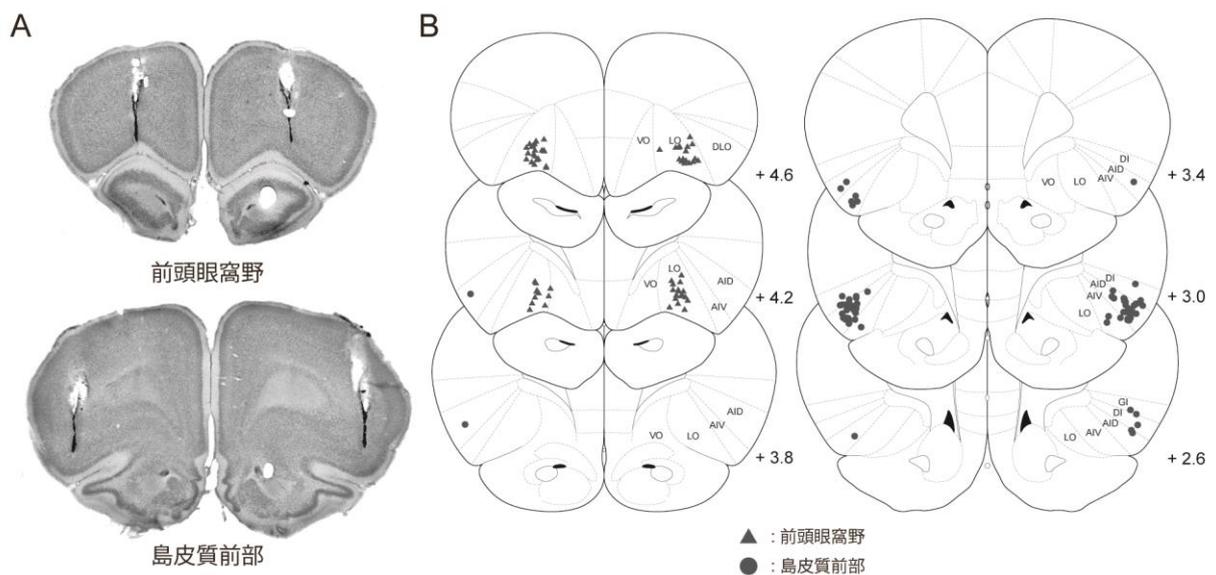


図 2-2. ガイドカニューレおよび注入用カニューレ先端位置の確認

A はニッスル染色された組織標本で、代表的なガイドカニューレおよび注入用カニューレ痕を示す。B は注入用カニューレの先端位置を The atlas of the rat brain (Paxinos and Watson, 2007) に示す。図中の英略号の意味は以下の通り。AID: dorsal agranular insular cortex, AIV: ventral agranular insular cortex, DI: dysgranular insular cortex, DLO: dorsolateral orbitofrontal cortex, GI: granular insular cortex, LO: lateral orbitofrontal cortex, VO: ventral orbitofrontal cortex

島皮質前部と前頭眼窩野へのドーパミン・セロトニン受容体サブタイプ選択的阻害注入がリスク選好性に与える影響

薬理実験の結果については図 2-3 にまとめた。またそれぞれの薬剤の効果を分かりやすく表現するため、図 2-4 では基準セッションと薬剤注入セッション間の差分を示した。前述のようにリスク選好性のレベルは個体によって差異があり、また同じ個体においても週レベルでは若干変化した（但し薬理実験を行うにあたっては、薬剤注入を行う直近 5 セッションの選択率が安定していることを確認した上で注入実験を行った。直近 5 セッションにおける選択率の標準偏差の平均は 11.5 であった。）ため、これらベースラインの差異が考慮されてい

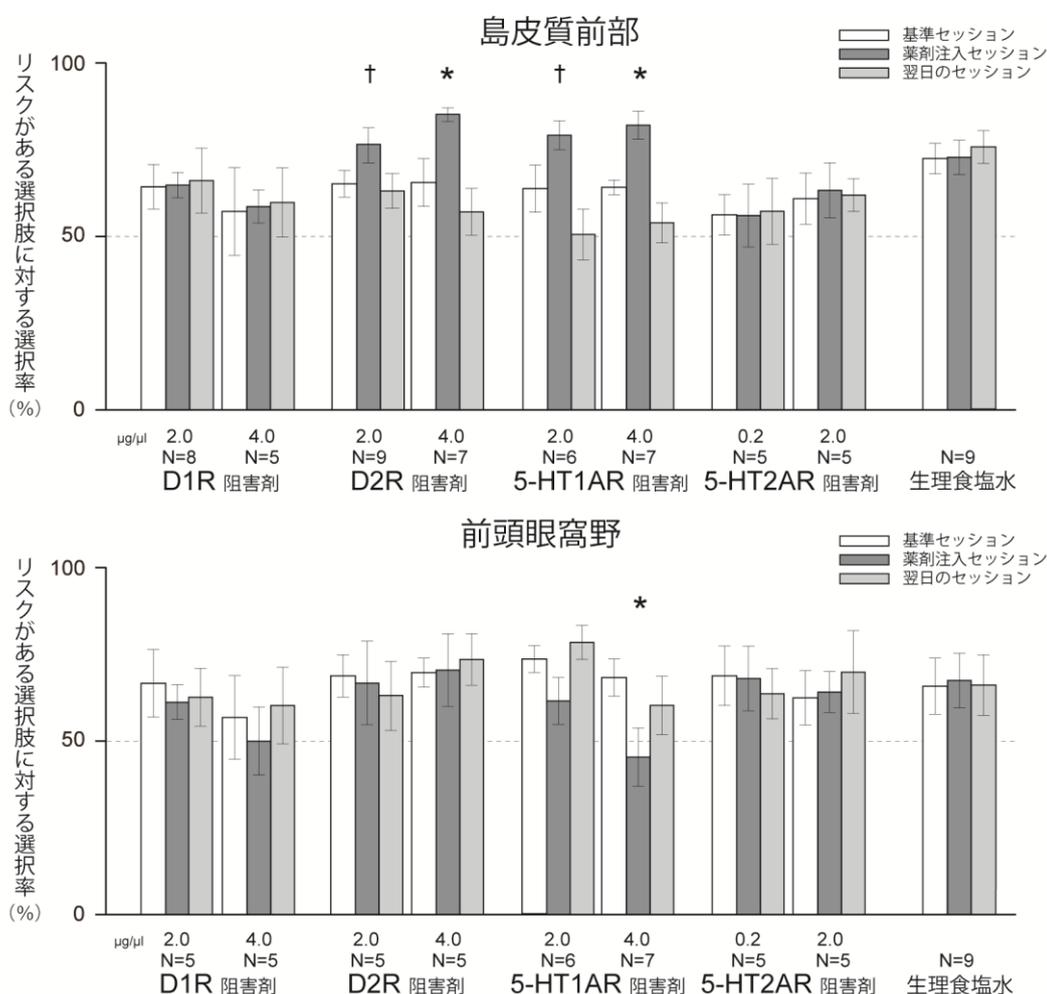


図 2-3. 島皮質前部と前頭眼窩野への各薬剤投与がリスク選好性に与える影響

リスクがある選択肢に対する選択率を注入前・注入後・翌日の 3 群で比較するため、基準セッションを対照群としてダネット法を用い検定を行った (* は $p < 0.05$ を、+ は $p < 0.10$ を示す)。島皮質前部では D2R 阻害剤と 5-HT1AR 阻害剤投与が共にリスク選好性を増加させ、対して前頭眼窩野では 5-HT1AR 阻害剤投与のみが効果を示しリスク選好性を減少させた。エラーバーは SEM。

る図 2-4 の方がより正確な表現であると思われる。図 2-4 においては、まずリスクがある選択肢に対する選択率の変化（薬剤注入セッションー基準セッション）が有意であったかどうかを One-sample *t*-test（有意水準は $p < 0.05$ ）を用いて薬剤条件毎に調べた。結果は以下の通りである。D₁ 受容体阻害剤 SCH23390 は島皮質前部・前頭眼窩野いずれにおいても有意な変化をもたらさなかった（島皮質前部：2.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, $t[7] = -0.09$, $p = 0.93$; 4.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, $t[4] = -0.13$, $p = 0.90$ ）（前頭眼窩野：2.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, $t[4] = 0.93$, $p = 0.41$; 4.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, $t[4] = 0.54$, $p = 0.62$ ）。一方、D₂ 受容体阻害剤 eticlopride は島皮質前部においてはリスク選好性を増加させた（2.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, $t[8] = -3.85$, $p = 0.005$; 4.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, $t[6] = -3.12$, $p = 0.02$ ）。しかし前頭眼窩野においては影響を

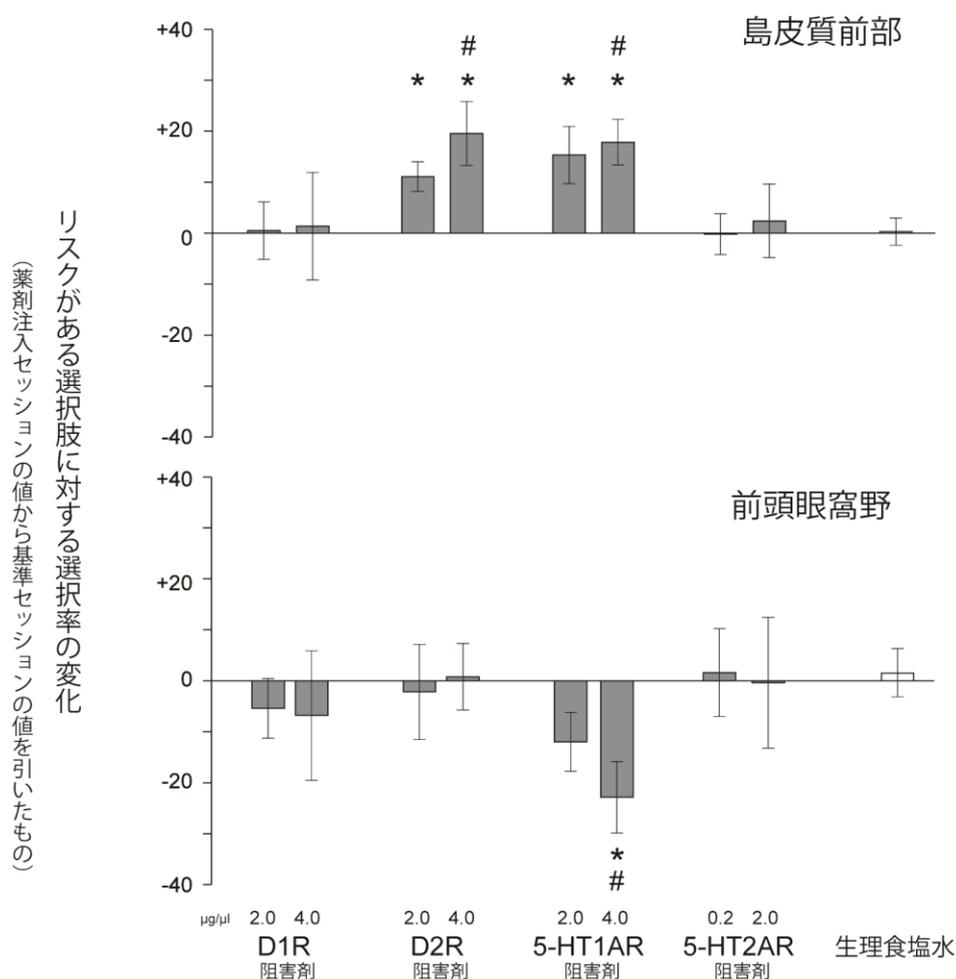


図 2-4. 薬理実験の結果を差分表示したもの

縦軸はリスクがある選択肢に対する選択率について薬剤注入セッションと基準セッションの差分を示している。統計解析ではまず変化が有意であったかを One-sample *t*-test を用いて検定した。次に生理食塩水群を対照群としてダネット法を用い各薬剤条件群を比較した（* は One-sample *t*-test において有意であったことを、# はダネット検定において有意であったことを示す）。エラーバーは SEM. を示す。

及ぼさなかった ($2.0 \mu\text{g}/\mu\text{l}$, $t[4] = 0.26$, $p = 0.83$; $4.0 \mu\text{g}/\mu\text{l}$, $t[4] = -0.12$, $p = 0.91$)。そして 5-HT_{1A} 受容体阻害剤 WAY100635 は島皮質前部においてはリスク選好性を増加させた ($2.0 \mu\text{g}/\mu\text{l}$, $t[5] = -2.73$, $p = 0.04$; $4.0 \mu\text{g}/\mu\text{l}$, $t[6] = -3.98$, $p = 0.007$) もの、前頭眼窩野においては反対にリスク選好性を減少させた ($2.0 \mu\text{g}/\mu\text{l}$, $t[5] = 2.09$, $p = 0.09$; $4.0 \mu\text{g}/\mu\text{l}$, $t[6] = 3.26$, $p = 0.02$)。最後に 5-HT_{2A} 受容体阻害剤 M100907 は島皮質前部・前頭眼窩野いずれにおいてもリスク選好性に影響を及ぼさなかった (島皮質前部: $0.2 \mu\text{g}/\mu\text{l}$, $t[4] = 0.05$, $p = 0.96$; $2.0 \mu\text{g}/\mu\text{l}$, $t[4] = -0.33$, $p = 0.76$) (前頭眼窩野: $0.2 \mu\text{g}/\mu\text{l}$, $t[4] = 0.06$, $p = 0.95$; $2.0 \mu\text{g}/\mu\text{l}$, $t[4] = -0.19$, $p = 0.86$)。また対照実験として行った生理食塩水注入においてもリスク選好性に変化は見られなかった (島皮質前部: $t[8] = -0.12$, $p = 0.90$) (前頭眼窩野: $t[8] = -0.35$, $p = 0.73$)。さらにリスク選好性に有意な変化が見られた実験条件においてその効果に濃度依存的な違いがあるかどうか 2 種の濃度条件間で Paired *t*-test (有意水準は $p < 0.05$) を用いて調べたところ、いずれの条件においても有意な差はなかった (島皮質: 2.0 vs. $4.0 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ D₂ 受容体阻害剤、 $p = 0.25$; 2.0 vs. $4.0 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ 5-HT_{1A} 受容体阻害剤、 $p = 0.73$) (前頭眼窩野: 2.0 vs. $4.0 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ 5-HT_{1A} 受容体阻害剤、 $p = 0.26$)。

次に各薬剤条件間で効果を比較するため生理食塩水群を対照群としてダネット法を用いて検定を行った。その結果島皮質前部ではいずれも $4.0 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ D₂R 阻害剤と 5-HT_{1A}R 阻害剤でリスク選好性の増加に有意差が見られた (それぞれ $p = 0.02$ 、 $p = 0.04$)。また前頭眼窩野では $4.0 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ 5-HT_{1A}R 阻害剤条件でのみリスク選好性の減少に有意差が見られた ($p = 0.04$)。これらの結果から、ドーパミンとセロトニンはそれぞれ D₂ 受容体・5-HT_{1A} 受容体を介してリスク選好性を促進する島皮質前部を抑制していると解釈できるだろう。一方セロトニンはリスク選好性を抑制する前頭眼窩野では 5-HT_{1A} 受容体を介してその機能を抑制し、結果としてリスク選好性を増加させている可能性がある。

ギャンブルに勝った後の選択・負けた後の選択 (履歴効果)

D₂ 受容体と 5-HT_{1A} 受容体阻害剤は共に島皮質前部においてリスク選好性を増加させた。ではドーパミンとセロトニンはこれらの受容体を介して全く同様の影響を島皮質前部に及ぼしているのだろうか、それとも差異はあるのだろうか。この可能性を探るため、得られた結果についてさらなる解析を行った。ここでは前の試行における選択の結果が次の選択に与える影響に着目した。興味深いことに、薬剤の影響がない通常の状態において、ラットは前の試行でリスクを冒して勝った時 (水 4 滴得られた時) よりも負けた時 (水が得られなかった

時)の方が次の試行において再びリスクを冒す傾向が強かった。例えばあるラットでは負けた後にリスクがある選択肢を選ぶ割合が78.0%であったのに対し勝った後では67.9%であった。この傾向がD₂受容体と5-HT_{1A}受容体阻害剤注入によってどのように変化していたのかを調べた。この傾向の強度はラットによって個体差があったため、図2-5でも図2-4同様、基準セッションと薬剤注入セッション間の選択率の変化分のみを示す。統計解析では、リスクがある選択肢を選んだ試行について直前の試行でリスクがある選択肢を選び勝った場合・負けた場合(およびリスクがない選択肢を選んだ場合)に分類し、それぞれの選択率について基準セッションと薬剤注入セッション間でOne-sample t-testを行った(有意水準は $p = 0.05$)。但し選択率を算出するにあたって前述の3条件に分類したため1条件ごとの試行数が減りデータのバラツキが大きくなってしまった。そこで検出力の低下を補うため、2つの濃度条件のデータを1つにまとめた(2つの濃度条件間で薬剤の効果に差は見られなかった)。解析の結果(図2-5)、島皮質前部へのD₂受容体阻害剤注入は勝った後のリスク選好性を増加させるものの負けた後のリスク選好性には影響を与えていないことが明らかとなった(N=16、 p 値はそれぞれ $p < 0.05$, $p = 0.99$)。対して島皮質前部への5-HT_{1A}受容体阻害剤注入は負けた後のリスク選好性を加させ勝った後のリスク選好性には影響を及ぼしていなかった(N=13、 p 値はそれぞれ $p < 0.05$, $p = 0.13$)。また前頭眼窩野へのD₂受容体阻害剤注入はそもそもリ

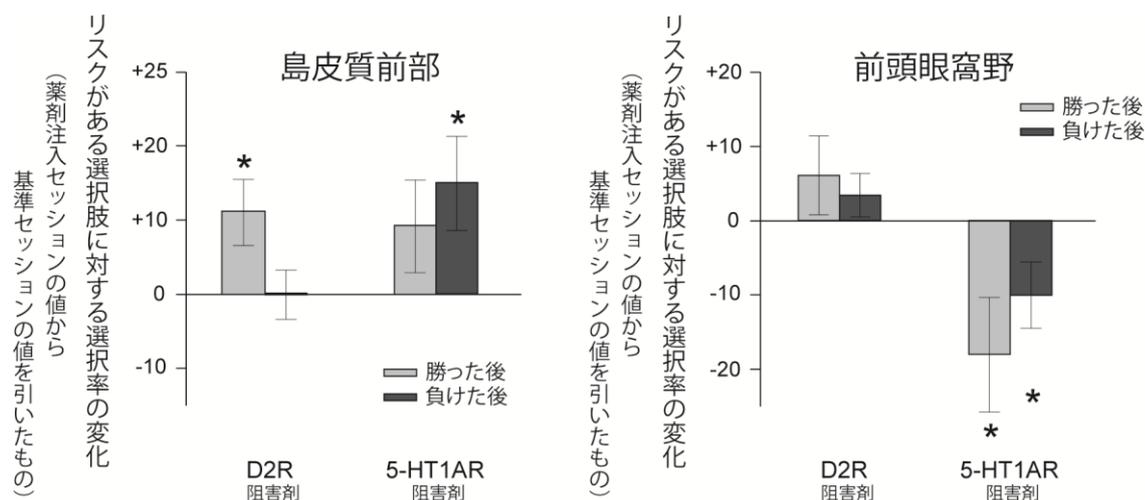


図2-5. ドーパミンとセロトニンのリスク選好性に対する履歴効果

縦軸はリスクがある選択肢に対する選択率について薬剤注入セッションと基準セッションの差分を示している。各薬剤に設けた2種の濃度条件間でリスク選好性に与える効果に違いはみられなかったため、ここでは2つの濃度群を1つにまとめている。変化が有意であったかどうかはOne-sample t-testを用いて検定した(*は $p < 0.05$ を示す)。エラーバーはSEMを示す。

リスク選好性を変化させなかったが、やはり勝った後負けた後いずれにおいても効果は見られなかった（ $N=10$ 、 p 値はそれぞれ $p = 0.28$, $p = 0.27$ ）。そして前頭眼窩野への 5-HT_{1A} 受容体阻害剤注入は勝った後負けた後いずれにおいても同様にリスク選好性を減少させていた（ $N=13$ 、 p 値は共に $p < 0.05$ ）。

リスク選好性以外に与える影響：その他の行動指標に対する影響

第 1 章と同様、薬剤注入のリスク選好性以外への影響を確認するため、選択率以外の 3 つの行動指標に対する影響を調べた。学習期間の強制選択における正答率、自由選択試行における反応時間（ノーズポークからレバー押しまでの時間）、セッション全体における反応ミス数について、基準セッションと薬剤注入後のセッション間で比較したものを表 2-1 に示す。誤答と反応ミスは薬剤注入条件でもほとんど生じず統計的にも差は見られなかった。一方、反応時間は概して薬剤注入後のセッションで遅くなる傾向があった。特に 2.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ の D₁ 受容体阻害剤注入では島皮質前部・前頭眼窩野いずれにおいても反応時間が遅くなった。他にも島皮質前部・前頭眼窩野における 4.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ の D₁ 受容体阻害剤注入、前頭眼窩野における 2.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ の 5-HT_{1A} 受容体阻害剤注入、島皮質前部における 2.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ の 5-HT_{2A} 受容体阻害剤注入で反応時間が遅くなる傾向があった（ p 値は 0.05-0.10 であった）。しかしこれらの反応時間の増加は生理食塩水注入条件と比較した場合有意な差ではなかったため、特定の薬剤の効果というわけではないと考えられる。

対照実験：報酬量の弁別能力に対する影響

次に薬剤注入による選択率の変化がリスク選好性に対する影響によるものではなく、報酬量の弁別能力そのものに対する影響によるものである可能性を検証するため、効果が見られた薬剤について報酬量の弁別課題の成績に影響を与えるのかどうかについて調べた。弁別課題では水 4 滴と 2 滴を選択させ、報酬条件の設定以外はギャンブル課題と全く同じ手法・手順を用いた。結果、いずれの薬剤においても弁別課題の成績には影響が見られなかった（島皮質前部×D₂ 受容体阻害剤：基準セッション [91.3 ± 6.3%]、薬剤注入セッション [86.0 ± 7.0%]、 $N=3$ ）（島皮質前部×5-HT_{1A} 受容体阻害剤：基準セッション [94.0 ± 2.0%]、薬剤注入セッション [93.7 ± 3.5%]、 $N=3$ ）（前頭眼窩野×5-HT_{1A} 受容体阻害剤：基準セッション [93.0 ± 1.2%]、薬剤注入セッション [93.7 ± 1.9%]、 $N=3$ ）。よって薬剤によるギャンブル課題における選択率の変化は報酬量の弁別能力に対する影響によるものではないと考えられる。

		島皮質前部				前頭眼窩野			
反応時間 (ms)		pre		post		pre		post	
D ₁ R 阻害剤	2.0 µg/µl	1136 ± 77	1361 ± 102	*	1081 ± 81	1250 ± 53	*		
	4.0 µg/µl	1099 ± 73	1706 ± 270	ns.	1074 ± 90	1610 ± 198	ns.		
D ₂ R 阻害剤	2.0 µg/µl	1202 ± 70	1482 ± 163	ns.	1271 ± 180	1370 ± 187	ns.		
	4.0 µg/µl	1036 ± 53	1149 ± 114	ns.	1114 ± 77	1248 ± 108	ns.		
5-HT _{1A} R 阻害剤	2.0 µg/µl	1580 ± 210	1521 ± 142	ns.	1242 ± 48	1484 ± 110	ns.		
	4.0 µg/µl	1353 ± 85	1246 ± 55	ns.	2428 ± 124	1311 ± 47	ns.		
5-HT _{2A} R 阻害剤	0.2 µg/µl	1319 ± 122	1218 ± 73	ns.	1251 ± 139	1226 ± 42	ns.		
	2.0 µg/µl	1210 ± 105	1419 ± 150	ns.	1099 ± 76	1244 ± 70	ns.		
生理食塩水		1047 ± 73	1327 ± 206	ns.	1157 ± 100	1367 ± 185	ns.		
正答率 (%)									
		pre		post		pre		post	
D ₁ R 阻害剤	2.0 µg/µl	100 ± 0	100 ± 0	ns.	100 ± 0	99.5 ± 0.5	ns.		
	4.0 µg/µl	99.5 ± 0.5	99.5 ± 0.5	ns.	100 ± 0	100 ± 0	ns.		
D ₂ R 阻害剤	2.0 µg/µl	100 ± 0	99.2 ± 0.4	ns.	99.5 ± 0.5	100 ± 0	ns.		
	4.0 µg/µl	99.3 ± 0.5	100 ± 0	ns.	100 ± 0	100 ± 0	ns.		
5-HT _{1A} R 阻害剤	2.0 µg/µl	99.6 ± 0.4	99.3 ± 0.4	ns.	97.8 ± 1.1	99.6 ± 0.4	ns.		
	4.0 µg/µl	99.3 ± 0.5	96.8 ± 3.2	ns.	99.3 ± 0.5	99.6 ± 0.4	ns.		
5-HT _{2A} R 阻害剤	0.2 µg/µl	98.5 ± 1.0	99.0 ± 0.6	ns.	96.5 ± 1.8	98.0 ± 0.9	ns.		
	2.0 µg/µl	99.5 ± 0.5	100 ± 0	ns.	99.5 ± 0.5	99.0 ± 0.6	ns.		
生理食塩水		100 ± 0	99.6 ± 0.4	ns.	100 ± 0	100 ± 0	ns.		
反応ミス数									
		pre		post		pre		post	
D ₁ R 阻害剤	2.0 µg/µl	0.3 ± 0.2	0.4 ± 0.3	ns.	0.2 ± 0.2	0 ± 0	ns.		
	4.0 µg/µl	0.2 ± 0.2	1.4 ± 0.9	ns.	0.2 ± 0.2	1.6 ± 0.9	ns.		
D ₂ R 阻害剤	2.0 µg/µl	0 ± 0	0 ± 0	ns.	0.4 ± 0.2	0 ± 0	ns.		
	4.0 µg/µl	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1	ns.	0.2 ± 0.2	0.2 ± 0.2	ns.		
5-HT _{1A} R 阻害剤	2.0 µg/µl	0.7 ± 0.3	0.7 ± 0.4	ns.	0.5 ± 0.3	0.5 ± 0.2	ns.		
	4.0 µg/µl	0.6 ± 0.3	0 ± 0	ns.	0.7 ± 0.5	0.6 ± 0.4	ns.		
5-HT _{2A} R 阻害剤	0.2 µg/µl	0 ± 0	0.2 ± 0.2	ns.	0.8 ± 0.6	0.2 ± 0.2	ns.		
	2.0 µg/µl	0.8 ± 0.2	0.4 ± 0.2	ns.	1.0 ± 0.4	0.4 ± 0.2	ns.		
生理食塩水		0.3 ± 0.2	0.3 ± 0.2	ns.	0.3 ± 0.2	0.6 ± 0.3	ns.		

値: 平均 ± SEM, *: $p < 0.05$, ns.: 有意差なし

表 2. 正答率・反応時間・反応ミス数に対する阻害剤の影響

考察

本研究ではリスクを伴う意思決定における島皮質前部と前頭眼窩野の機能にドーパミンとセロトニンがどのような影響をもたらしているのか調べるため、各脳領域局所的に受容体サブタイプ特異的阻害剤を注入し、ギャンブル課題におけるラットのリスク選好性に与える影響を評価した。その結果、島皮質前部においては D_2 受容体と $5-HT_{1A}$ 受容体阻害剤の注入はどちらもリスク選好性を増加させていたものの、前者は主にギャンブルに勝った後のリスク選好性に、後者は負けた後のリスク選好性に影響を与えることが分かった。また前頭眼窩野への $5-HT_{1A}$ 受容体阻害剤注入は、島皮質前部への注入とは反対にリスク選好性を減少させた。これらの結果は、リスクを伴う意思決定における島皮質前部や前頭眼窩野の機能にドーパミンやセロトニンが実際に影響を与えていることを示しているだけでなく、2つの神経伝達物質が異なる役割を担っていること、関与する受容体サブタイプが異なることも示している。特に過去の選択における結果に依存してドーパミンとセロトニンが異なる影響を及ぼしているという点は非常に興味深い。

島皮質前部と前頭眼窩野におけるドーパミンの役割

島皮質前部への D_2 受容体阻害剤注入がリスク選好性を増加させたという今回の結果は St Onge らの先行研究 (St Onge et al., 2011) と似ている。彼女らのグループは、ラットの内側前頭前野に D_2 受容体阻害剤を局所注入するとリスク選好性が増加することを報告している。さらにその効果は、本研究と同様にギャンブルに勝った後のリスク選好性に特異的であった。また内側前頭前野への D_1 受容体阻害剤注入はリスク選好性を減少させたものの、 D_1 受容体作動薬の注入は効果がなかったとも報告している。本研究でも島皮質前部への D_1 受容体阻害剤注入はリスク選好性に影響を与えなかったことから、少なくとも前頭前野において D_1 受容体の操作は D_2 受容体の操作ほどにはリスク選好性に顕著な効果をもたらさないようである。

島皮質前部には D_1 受容体・ D_2 受容体いずれの mRNA も発現していることを考えると、この結果は予想外であった。但しラットの前頭前野において、 D_1 受容体と D_2 受容体は概して異なるニューロンに発現していることが多いとされている (Santana et al., 2009) を考えると、島皮質前部では D_2 受容体を発現するニューロンがリスクを伴う意思決定に関与しているのかもしれない。いずれにせよ今回の結果から、ドーパミンはリスク選好性を促進する島皮質前部の機能を D_2 受容体を介して抑制していると考えられるだろう。

前頭眼窩野への D_1 受容体・ D_2 受容体阻害剤注入はリスク選好性に影響を与えなかったが、

この結果はドーパミン作動性ニューロンの投射線維の分布 (Ohara *et al.*, 2003; Van De Werd and Uylings, 2009) や D_1 受容体・ D_2 受容体の mRNA の発現分布 (Santana, 2009) といった解剖学的知見と一致する。よって前頭眼窩野はドーパミンの直接的な影響を受けてないと考えられる。一方で前頭眼窩野は、中脳ドーパミン作動性ニューロンに投射していることが分かっている (Hoover and Vertes, 2011)。このことから、前頭眼窩野は中脳ドーパミン作動性ニューロンへの働きかけを介してドーパミンの調節を受ける他の脳領域に影響を与えている可能性が考えられる。例えばリスク選好性を抑制する機能を持つ前頭眼窩野は、中脳ドーパミン作動性ニューロンを興奮させることで島皮質前部におけるドーパミンの放出量を増やし、島皮質前部を抑制しているのかもしれない。

そもそも島皮質前部に放出されるドーパミンの元となっている中脳ドーパミン作動性ニューロンは、報酬が得られる確率やリスクなどを含めた報酬に関連する様々な情報を符号化していることが知られている (Fiorillo *et al.*, 2003)。報酬が確率的に得られる場合、すなわち報酬にリスクが伴う場合には、中脳ドーパミン作動性ニューロンは報酬が得られた時 (本研究ではギャンブルに勝った時) に発火頻度を増加させ、報酬が得られなかった時 (負けた時) には発火頻度を減少させる (Oyama *et al.*, 2010; Fiorillo 2011)。この性質を踏まえて考察すると、ドーパミン作動性ニューロンはギャンブルに勝った時に大量にドーパミンを放出することで D_2 受容体を介して島皮質前部の機能を抑制し、次の選択で再びリスクを冒してしまわないよう働きかけている可能性があるとも考えられるだろう。

島皮質前部と前頭眼窩野におけるセロトニンの役割

5-HT_{1A} 受容体阻害剤は島皮質前部に注入した場合と前頭眼窩野に注入した場合でリスク選好性に対し反対の効果をもたらした。著者の知る限り、リスクを伴う意思決定においてセロトニンが領域毎に異なる影響を持つことを示した例は初めてである。

島皮質前部におけるドーパミンが、ギャンブルに勝った成功体験に基づく意思決定に対してより強く関与すると考えられるのに対し、島皮質前部におけるセロトニンはギャンブルに負けた失敗体験に基づく意思決定に対してより強く関与していることが、島皮質前部への 5-HT_{1A} 受容体阻害剤注入の結果から考えられる。島皮質前部におけるセロトニンは 5-HT_{1A} を介して島皮質前部の機能を抑制し、負けた後次の選択で再びリスクを冒してしまわないよう働きかけているのではないだろうか。以前より意思決定や学習においてセロトニンは負の強化学習や損失忌避に重要な役割を担っている可能性があると考えられてきた (Tanaka *et al.*,

2009; Cools *et al*, 2011)。脳全体（正確には全身）のセロトニンレベルの低下がリスクを伴う意思決定に及ぼす影響を調べた研究では、サルにおいてもラットにおいてもやはりリスクを冒して負けた後のリスク選好性が増加することが報告されており（Long *et al*, 2009; Koot *et al*, 2012）、本研究結果と一貫している。

一方前頭眼窩野への 5-HT_{1A} 受容体阻害剤注入は、勝った後負けた後にかかわらずリスク選好性を減少させた。つまり前頭眼窩野のセロトニンは過去の経験にかかわらず、リスク選好性を抑制するという前頭眼窩野の機能を抑制しているように思われる。これまで前頭眼窩野のセロトニンは、行動の柔軟性や刺激と結果の随伴性の変化への対応に関与していると考えられてきた（Roberts, 2011）。本研究結果は、前頭眼窩野の 5-HT_{1A} 受容体を阻害すると勝ち負けの違いに対する感受性が損なわれた結果を反映したものであると解釈できるかもしれない。

5-HT_{1A} 受容体阻害剤がリスク選好性に与える影響は島皮質前部と前頭眼窩野で大きく異なっていた。第一に島皮質前部ではリスク選好性を増加させたのに対し前頭眼窩野では減少させた。第二に島皮質前部においては履歴依存であったのに対し前頭眼窩野においては履歴効果を示さなかった。第一の点については、一般に 5-HT_{1A} 受容体が活性化するとニューロンは過分極する（Barnes and Sharp, 1999）ことから、5-HT_{1A} 受容体阻害がリスク選好性を促進する島皮質前部やそれを抑制する前頭眼窩野の機能を脱抑制したと解釈できるかもしれない。しかしセロトニンが脳の各領域に一樣に放出されているとすると、島皮質前部も前頭眼窩野も共に抑制されるためその効果は打ち消し合ってしまうはずである。よって島皮質前部と前頭眼窩野に投射するセロトニン作動性ニューロンはそれぞれ異なる機能を持ち異なる場面で活動すると考えるのが妥当かもしれない。これまで全身のセロトニンレベルを操作する手法を用いてセロトニンの学習や意思決定における役割を調べた研究では、必ずしも研究間で一致した結果が得られてきたわけではなかった（Rogers *et al*; 2003, Murphy *et al*, 2009）。仮に脳領域毎にセロトニンが異なる挙動・機能を示すとすれば、それぞれの研究で用いられた行動課題がどのような脳機能を必要とするか（すなわちどの脳領域が特に重要な役割を果たすか）が結果に大きく反映されてしまっていたのかもしれない。そもそもセロトニン作動性ニューロンが密集する縫線核において記録された単一神経活動からは、それらが行動課題の様々なイベントに応答し、かつその様子は神経細胞毎に非常に多様であることが分かっている（Ranade and Mainen, 2009; Inaba *et al.*, 2013）。例えばある神経細胞はより大きな報酬に対し発火頻度を増加させるのに対し、別の神経細胞はより小さな報酬あるいは報酬が得られな

かったことに対し発火頻度を増加させる (Nakamura et al., 2008)。これらの事実は単にセロトニン作動性ニューロンといっても異なった機能を持っている可能性があることを示唆しており、意思決定や学習におけるセロトニンの役割は負の強化学習や損失忌避だけに限定されているわけではないのかもしれない。

本研究結果で予想外であったのは 5-HT_{2A} 受容体阻害剤注入が島皮質前部・前頭眼窩野いずれにおいてもリスク選好性に影響を与えなかったことである。ラットの前頭前野においては 60%の錐体ニューロンと 20%の GABA 作動性介在ニューロンで 5-HT_{1A} 受容体と 5-HT_{2A} 受容体が発現しており、そのほとんどでこれらが共発現している (Amargos-Bosch et al., 2004; Santana et al., 2004) ことを考えると、5-HT_{2A} 受容体阻害剤注入のみが影響を与えなかったのは今のところ解釈が困難である。但しヒトではより特異性の低い 5-HT_{2A} 受容体阻害剤ケタンセリンの全身投与がリスク忌避性を増加させるという例がある (Macoveanu et al., 2013)。勿論ケタンセリンは 5-HT_{2A} 受容体だけでなく 5-HT_{2c} 受容体、アドレナリン α 1 受容体、ヒスタミン H1 受容体にも作用を持つため、生じた影響はこの低い特異性によるものである可能性も考えられる。

ドーパミンとセロトニンの履歴効果

従来ドーパミン系やセロトニン系など広範囲調節系は「詳細な感覚情報を運ぶというよりは、むしろ、調節機能を果たす」(神経科学-脳の探求-、第 15 章 pg. 387、西村書店)と考えられてきた。伝達物質を産生するニューロンの大部分は脳幹に位置し、そこから脳の広範な領域に伸び、ニューロン非特異的に作用することで、覚醒状態や気分、動機づけといった脳全体の内部状態を制御しているというのが基本的な考え方である。ところが実際に中脳黒質・腹側被蓋野のドーパミン作動性ニューロンや縫線核のセロトニン作動性ニューロン(と推定される)の単一神経活動が調べられるようになると、これらは例えば報酬に関連するイベントに対しミリ秒あるいは秒単位の一過的な発火頻度の増減を示すことが分かってきた (Schultz et al., 1986; Nakamura et al. 2008)。さらに刺激と報酬の随伴性を学習するような場合においては、ドーパミン作動性ニューロンは学習前には報酬のみに応答するが学習後には刺激に対し応答するようになり、実際の報酬に対しては随伴性が変化した場合にのみ(報酬量が増えたり減ったりした場合)応答する (Schultz et al., 1997)。この報酬予測誤差の符号化は強化学習に重要な役割を果たすと考えられている。こうした事実は、ドーパミンやセロトニンが従来考えられてきたよりもよりずっと詳細で時間解像度の高い情報を伝達している

ことを示しているだろう。

このような流れの中で近年ドーパミンとセロトニンは過去の意思決定の結果を現在の意思決定に活かす上で重要な役割を担っているのではないかと注目されている (Cools et al., 2011; Rogers, 2011)。そして本研究では、それらの投射先である島皮質前部において、ドーパミンはギャンブルに勝った後のリスク選好性に影響を与え、セロトニンは負けた後のリスク選好性に影響を与えることが明らかとなった。このような履歴依存的効果が生じるということは、これらの神経伝達物質はセッション全体を通じた動機付けレベルを左右していたというよりも、勝ち負けなど試行毎に異なる詳細な情報を伝達していたと考えられる。1試行あたり要する時間は数秒から十数秒であることから、情報伝達の時間解像度は前述したミリ秒・秒オーダーで応答する単一神経活動と一致する。これは内部状態の維持に適していると思われる分・時間オーダーの神経伝達物質濃度変化とは異なる。今後はドーパミン・セロトニンの標的領域におけるそれぞれの詳細な動態（濃度変化）とそれに伴う標的領域の神経活動の変化を追っていく必要があるだろう。

結び

第1章の実験では島皮質前部の不活性化はリスク選好性を減少させ、対して前頭眼窩野の不活性化はリスク選好性を増加させたことから、本来島皮質前部はリスク選好性を促進し前頭眼窩野は抑制する性質を持つと考えられた。そして第2章ではドーパミンとセロトニンの受容体サブタイプを標的として、島皮質前部・前頭眼窩野の各受容体の阻害がリスク選好性に与える影響を調べた。その結果島皮質前部への D_2 受容体と $5-HT_{1A}$ 受容体阻害剤注入はどちらもリスク選好性を増加させ、前頭眼窩野への $5-HT_{1A}$ 受容体阻害剤注入はリスク選好性を減少させた。 D_2 受容体と $5-HT_{1A}$ 受容体の活性化はいずれも抑制性に作用する (Barnes and Sharp, 1999; Seamans and Yang, 2004) ことから、これらの結果は阻害剤によって島皮質前部・前頭眼窩野の機能が脱抑制された結果と解釈することもできる可能性がある。

しかし島皮質前部における D_2 受容体と $5-HT_{1A}$ 受容体阻害剤注入の影響は履歴効果では異なっていたことから、単純に島皮質前部全体が脱抑制され機能が亢進したわけではないだろう。むしろ、少なくとも島皮質前部においてはドーパミンとセロトニンは異なる役割を担っていると考えられる。リスクを冒して勝ったという成功体験に対して放出されるドーパミンは D_2 受容体を介して島皮質前部を抑制し、さらに過度にリスク選好性が高まってしまうよう制御しているのかもしれない。一方負けたという失敗体験に対して放出されるセロトニ

ンは 5-HT_{1A} 受容体を介してやはり島皮質前部を抑制し、同じ過ちを繰り返さないようリスク選好性を減少させているのかもしれない。

総合考察

現実世界においては私たちを取り巻く環境は刻一刻と変化している。頻繁に変化するものに対しては予測を立てることが難しく、そういったものに対する意思決定は非常に困難である。起こり得る事象と生起確率が分かっていたら数学的には期待値を求め意思決定するのが合理的であるが、それはあくまでも統計的側面であり1回1回の選択の良し悪しを保証するものではない。そのため実際には、我々は期待や不安といった生物学的要因に大きく左右される。本研究のギャンブル課題においても、ラットはリスクがある選択肢とリスクがない選択肢の期待値が等価であるにもかかわらずリスク選好性を示すという、数学的な合理性に反する選択を行った。何故このような傾向を示したかその理由を説明する明確な実験的根拠があるわけではないが、おそらく実験期間中のラットは摂水制限下に置かれ渇水状態で行動課題に臨んでいたため、より多くあるいはより早く水が得られる可能性に魅かれリスクを冒したのだろう。もちろんリスクを冒さなくても十分に満足できる条件で報酬が得られる場合はリスクを回避するだろうし、実際本研究でもリスクがない選択肢の報酬条件を変えると選択率も変動した。しかし自然界ではむしろ食料や配偶者に満たされている方が稀であり、そうしたチャンスを掴むためにリスクを冒す必要性に迫られることの方が多いのではないだろうか。そうした点を考えると、摂水制限下に置くという本実験の条件は、決して現実を逸脱した特殊な条件ではなく、得られた結果は動物本来の自然な特性を示しているのかもしれない。

とはいえより良い報酬条件が得られる可能性があるからといってリスクを冒すことの負の側面を無視することはできない。過度にリスクを冒せばすいつかは身を滅ぼす。重要なのはバランスであり、我々はどちらを選ぶべきか決断を下す最後の最後まで、さらには決断した後までその判断に頭を悩ませ続ける。結果が予測できないというリスクを伴う問題に対する意思決定は明らかに結果が予測できる問題に対する意思決定とは異なるプロセスでなされる。例えば本研究の結果によれば、島皮質前部や前頭眼窩野の不活性化はギャンブル課題におけるリスク選好性に影響を与える一方で、異時点間選択課題における意思決定には影響を与えなかった。異時点間選択課題ではギャンブル課題と同様、報酬量の多寡と報酬が得られるまでにかかる時間に関して選択させる課題であったが、“報酬量が多いが待たされる”あるいは“報酬量は少ないがすぐに手に入る”といった二律背反的側面を持つものの結果自体は予測可能な選択肢に関する意思決定を要求していた。このような選択には、少なくとも島皮質前部と前頭眼窩野は必須ではないだろう。これまで前頭眼窩野は価値・判断に深く関与して

いると考えられてきたが、実は前頭眼窩野の破壊を行っても単純な意思決定課題には影響が出ないことは知られていた（Schoenbaum et al., 2011）。むしろ逆転学習といった刺激と結果の関係性が変化するような不確実性を伴う場面での重要性が幾度も報告されている（Butter, 1969; Jones and Mishkin, 1972; Walton et al., 2010; reviewed in Clark et al., 2003）。価値判断や意思決定は、何も発達した前頭前野を有する高等な動物だけが持つ能力ではない。単純な強化学習に基づく行動選択はより低次な脳領域によって構成されるネットワークでも実現できると考えるのが妥当ではないだろうか。その上で、著者は前頭眼窩野や島皮質、そして前頭前野の各領域の発達が変化する環境に対する素早い柔軟性を実現するのに寄与してきたのではないかと考える。不確実性を伴う状況下では、必ずしも数学的期待値のような繰り返しの経験・学習に基づく意思決定が功を奏するとは限らない。生存競争の中では時として戦略的に、低い可能性に賭けたりあるいはさっと身を引いたりすることが、結果として大多数の平均的な顛末より良い結果を生み、高い適応度をもたらす。そうした意思決定を実現する脳のメカニズムとして、島皮質前部はより良い報酬が得られる可能性の追求に対して高い指向性を持ち、一方前頭眼窩野はその負の側面の評価について高い指向性を持つよう機能分化がなされているのではないだろうか。

謝辞

本研究の実施にあたり、惜しみないご指導・ご援助を頂きました東北大学大学院生命科学
研究科脳情報処理分野 飯島敏夫教授に深い感謝の意を表します。また実験の計画から論文
執筆に至るまで常に多大なご指導・ご助言を下さいました同 筒井健一郎准教授・同 大原
慎也助教、ならびにスイス大学 Tobler 教授に心より感謝申し上げます。そして共同で実験
を進めてくれた高橋勝平氏・海津祐太氏をはじめ、多くの協力を頂きました脳情報処理研究
室の皆様心よりお礼申し上げます。

引用文献

1. Amargós-Bosch M, Bortolozzi A, Puig MV, Serrats J, Adell A, Celada P, Toth M, Mengod G, Artigas F (2004). Co-expression and in vivo interaction of serotonin1A and serotonin2A receptors in pyramidal neurons of prefrontal cortex. *Cerebral Cortex*, 14:281-99.
2. Asahi T, Uwano T, Eifuku S, Tamura R, Endo S, et al. (2006). Neuronal responses to a delayed-response delayed reward GO/NOGO task in the monkey posterior insular cortex. *Neuroscience* 143:627-639.
3. Barnes NM, Sharp T (1999). A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology* 38:1083-152.
4. Bateson M (2002). Recent advances in our understanding of risk-sensitive foraging preferences. *Proceedings of the Nutrition Society* 61: 509-16.
5. Bechara A, Damasio AR, Damasio H, Anderson AW (1994). Insensitivity to future consequences following damage to human prefrontal cortex. *Cognition* 50: 7-15.
6. Bechara A, Damasio H, Damasio AR, Lee GP (1999). Different contributions of the human amygdala and ventromedial prefrontal cortex to decision-making. *Journal of Neuroscience* 19: 5473-5481.
7. Bechara A, Damasio H, Tranel D, Anderson SW (1998). Dissociation of working memory from decision making within the human prefrontal cortex. *Journal of Neuroscience* 18:428-437.
8. Berger B, Gaspar P, Verney C (1991). Dopaminergic innervation of the cerebral cortex: unexpected differences between rodents and primates. *Trends in Neuroscience* 14:21-27.
9. Berger B, Thierry AM, Tassin JP, Moyne MA (1976). Dopaminergic innervation of the rat prefrontal cortex: a fluorescence histochemical study. *Brain Research* 106:133-145.
10. Breiter HC, Aharon I, Kahneman D, Dale A, Shizgal P (2001). Functional imaging of neural responses to expectancy and experience of monetary gains and losses. *Neuron* 30: 619-639.
11. Burke CJ, Tobler PN (2011). Coding of reward probability and risk by single neurons in animals. *Frontiers in Neuroscience* 5:121.
12. Burke CJ, Tobler PN (2011). Reward skewness coding in the insula independent of probability and loss. *Journal of Neurophysiology* 106: 2415-2422.
13. Burke CJ, Brünger C, Kahnt T, Park SQ, Tobler PN (2013). Neural integration of risk and effort costs by the frontal pole: only upon request. *Journal of Neuroscience* 33:1706-13a.

14. Butter C (1969). Perseveration in extinction and in discrimination reversal tasks following selective frontal ablations in *Macaca mulatta*. *Physiology and Behavior* 4: 163-171.
15. Calaminus C, Hauber W (2008). Guidance of instrumental behavior under reversal conditions requires dopamine D1 and D2 receptor activation in the orbitofrontal cortex. *Neuroscience* 154:1195-204.
16. Caraco T (1981). Energy Budgets, Risk and Foraging Preferences in Dark-Eyed Juncos (*Junco-Hyemalis*). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 8: 213-217.
17. Cardinal RN, Pennicott DR, Sugathapala CL, Robbins TW, Everitt BJ (2001). Impulsive choice induced in rats by lesions of the nucleus accumbens core. *Science* 292: 2499-2501.
18. Clark L, Cools R, Robbins TW (2004). The neuropsychology of ventral prefrontal cortex: decision-making and reversal learning. *Brain and Cognition* 55:41-53.
19. Clark L, Lawrence AJ, Astley-Jones F, Gray N (2009). Gambling near-misses enhance motivation to gamble and recruit win-related brain circuitry. *Neuron* 61:481-490.
20. Contreras M, Ceric F, Torreabla F (2007). Inactivation of the interoceptive insula disrupts drug craving and malaise induced by lithium. *Science* 318: 655-658.
21. Cools R, Nakamura K, Daw ND (2011). Serotonin and dopamine: unifying affective, activational, and decision functions. *Neuropsychopharmacology*, 36:98-113.
22. Craig AD (2009). How do you feel-now? The anterior insula and human awareness. *Nature Review Neuroscience* 10: 59-70.
23. Craig AD, Chen K, Bandy D, Reiman EM (2000). Thermosensory activation of insular cortex. *Nature Neuroscience* 3:184-190.
24. Craig AD (2003). Interoception: the sense of the physiological condition of the body. *Current Opinion in Neurobiology* 13: 500-505.
25. Critchley HD, Mathias CJ, Dolan RJ (2001). Neural activity in the human brain relating to uncertainty and arousal during anticipation. *Neuron* 29: 537-545.
26. Damasio AR (1996). The somatic marker hypothesis and the possible functions of the prefrontal cortex. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 351: 1413-1420.
27. Delatour B, Witter MP (2002). Projection from parahippocampal region to the prefrontal cortex in the rat: evidence of multiple pathways. *European Journal of Neuroscience* 15: 1400-1407.

28. den Ouden HE, Daw ND, Fernandez G, Elshout JA, Rijpkema M, Hoogman M, Franke B, Cools R (2013). Dissociable effects of dopamine and serotonin on reversal learning. *Neuron* 80:1090-100
29. Doya K (2008). Modulators of decision making. *Nature Neuroscience* 11: 410-416.
30. Edeline JM, Hars B, Hennevin E, Cotillon N (2002). Muscimol diffusion after intracerebral microinjections: a reevaluation based on electrophysiological and autoradiographic quantifications. *Neurobiology of Learning and Memory* 78: 100-124.
31. Ernst M, Bolla K, Mouratidis M, Contoreggi C, Matochik JA, Kurian V, Cadet JL, Kimes AS, London ED (2002). Decision-making in a risk-taking task: A PET study. *Neuropsychopharmacology* 26: 682-691.
32. Evenden JL, Ryan CN (1996). The pharmacology of impulsive behavior in rats: the effects on drugs on response choice with varying delays of reinforcement. *Psychopharmacology* 128: 161-170.
33. Fecteau S, Knoch D, Fregni F, Sultani N, Boggio P, Pascual-Leone A (2007). Diminishing risk-taking behavior by modulating activity in the prefrontal cortex: a direct current stimulation study. *Journal of Neuroscience* 27:12500-5.
34. Fiorillo CD (2011). Transient activation of midbrain dopamine neurons by reward risk. *Neuroscience*, 197:162-71.
35. Fiorillo CD, Tobler PN, Schultz W (2003). Discrete coding of reward probability and uncertainty by dopamine neurons. *Science*, 299:1898-902.
36. Fujita S, Kiguchi M, Lee J, Terakado M, Suga K, Hatanaka H, Koshikawa N (2008). 5-HT(1A) and 5-HT(1B) receptors in the ventrolateral striatum differentially modulate apomorphine-induced jaw movements in rats. *Journal of Oral Science* 50:387-95.
37. Fukui H, Murai T, Fukuyama H, Hayashi T, Hanakawa T. (2005). Functional activity related to risk anticipation during performance of the Iowa gambling task. *Neuroimage* 24: 253-259.
38. Furr A, Lapid-Bluhm MD, Morilak DA (2012). 5-HT_{2A} receptors in the orbitofrontal cortex facilitate reversal learning and contribute to the beneficial cognitive effects of chronic citalopram treatment in rats. *International Journal of Neuropsychopharmacology* 15:1295-305.
39. Fuster JM (2008). *The prefrontal cortex*, fourth edition (London: Academic Press).

40. Ghods-Sharifi S, St Onge JR, Floresco SB (2009). Fundamental contribution by the basolateral amygdala to different forms of decision making. *Journal of Neuroscience* 29: 5251-5259.
41. Hoover WB, Vertes RP (2011). Projections of the medial orbital and ventral orbital cortex in the rat. *Journal of Comparative Neurology* 519: 3766-3801.
42. Horst N K , Laubach M (2009). The role of rat dorsomedial prefrontal cortex in spatial working memory. *Neuroscience* 164: 444-456.
43. Hoover WB, Vertes RP (2011). Projections of the medial orbital and ventral orbital cortex in the rat. *Journal of Comparative Neurology* 519: 3766-3801.
44. Horst N K , Laubach M (2009). The role of rat dorsomedial prefrontal cortex in spatial working memory. *Neuroscience* 164: 444-456.
45. Imamura A, Uitti RJ, Wszolek ZK (2006). Dopamine agonist therapy for Parkinson disease and pathological gambling. *Parkinsonism and Related Disorder* 12:506-8.
46. Inaba K, Mizuhiki T, Setogawa T, Toda K, Richmond BJ, Shidara M (2013). Neurons in monkey dorsal raphe nucleus code beginning and progress of step-by-step schedule, reward expectation, and amount of reward outcome in the reward schedule task. *Journal of Neuroscience* 33:3477-91.
47. Ishii H, Ohara S, Tobler PN, Tsutsui KI, Iijima T (2012). Inactivating anterior insular cortex reduces risk taking. *Journal of Neuroscience* 32:16031-16039.
48. Jones B, Mishkin M (1972). Limbic lesions and the problem of stimulus--reinforcement associations. *Experimental Neurology* 36:362-77.
49. Kacelnik A, Abreu FBE (1998). Risky choice and Weber's law. *Journal of Theoretical Biology* 194: 289-298.
50. Kacelnik A, Bateson M (1996). Risky theories-The effects of variance on foraging decisions. *American Zoologist* 36: 402-434.
51. Kalenscher T, Pennartz CMA (2008). Is a bird in the hand worth two in the future? The neuroeconomics of intertemporal decision-making. *Progress in Neurobiology* 84: 284-315.
52. Knoch D, Gianotti LR, Pascual-Leone A, Treyer V, Regard M, Hohmann M, Brugger P (2006). Disruption of right prefrontal cortex by low frequency repetitive transcranial magnetic stimulation induces risk taking behavior. *Journal of Neuroscience* 26:6469 –6472.

53. Knutson B, Adams CM, Fong GW, Hommer D (2001). Anticipation of increasing monetary reward selectively recruits nucleus accumbens. *Journal of Neuroscience* 21: art. no. –RC159, 2001.
54. Kong J, White NS, Kwong KK, Vangel MG, Rosman IS, et al. (2006). Using fMRI to dissociate sensory encoding from cognitive evaluation of heat pain intensity. *Human Brain Mapping* 27: 715-721.
55. Koot S, Zoratto F, Cassano T, Colangeli R, Laviola G, van den Bos R, Adriani W (2012). Compromised decision-making and increased gambling proneness following dietary serotonin depletion in rats. *Neuropharmacology* 62:1640-50.
56. Kuhnen CM, Knutson B (2005). The neural basis of financial risk taking. *Neuron* 47: 763-770.
57. Kuhnen CM, Chiao JY (2009). Genetic determinants of financial risk taking. *PLoS One* 4:e4362.
58. Li X, Lu Z, D'Argembeau A, Ng M, Bechara A (2010). The Iowa gambling task in fMRI images. *Human Brain Mapping* 31: 410-423.
59. Linley SB, Hoover WB, Vertes RP (2013). Pattern of distribution of serotonergic fibers to the orbitomedial and insular cortex in the rat. *Journal of Chemical Neuroanatomy* 48-49:29-45.
60. Logan FA (1965). Decision making by rats: Uncertain outcome choices. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 59: 246-251.
61. Long AB, Kuhn CM, Platt ML (2009). Serotonin shapes risky decision making in monkeys. *Social Cognitive and Affective Neuroscience* 4:346-56.
62. Macoveanu J, Rowe JB, Hornboll B, Elliott R, Paulson OB, Knudsen GM, Siebner HR (2013). Serotonin 2A receptors contribute to the regulation of risk-averse decisions. *Neuroimage* 83C:35-44.
63. Mai B, Hauber W (2012). Intact risk-based decision making in rats with prefrontal or accumbens dopamine depletion. *Cognitive, Affective and Behavioral Neuroscience* 12:719-29.
64. McCoy AN, Platt ML (2005). Risk-sensitive neurons in macaque posterior cingulate cortex. *Nature Neuroscience* 8: 1220-1227.
65. Mcnamara JM, Houston AI (1992). Risk-Sensitive Foraging - a Review of the Theory. *Bulletin of Mathematical Biology* 54: 355-378.

66. Mesulam MM, Mufson EJ (1982). Insula of the old world monkey. III: Efferent cortical output and comments on function. *Journal of Comparative Neurology* 212:38–52.
67. Mizuhiki T, Richmond BJ, Shidara: Encoding reward expectation by monkey anterior insular neurons. *Journal of Neurophysiology* 107: 2996-3007, 2012.
68. Mohr PN, Biele G, Heekeren HR (2010). Neural processing of risk. *Journal of Neuroscience* 30: 6613-6619.
69. Murphy SE, Longhitano C, Ayres RE, Cowen PJ, Harmer CJ, Rogers RD (2009). The role of serotonin in nonnormative risky choice: the effects of tryptophan supplements on the "reflection effect" in healthy adult volunteers. *Journal of Cognitive Neuroscience* 21:1709-19.
70. Nakamura K, Matsumoto M, Hikosaka O (2008). Reward-dependent modulation of neuronal activity in the primate dorsal raphe nucleus. *Journal of Neuroscience* 28:5331-43.
71. Naqvi NH, Bechara A (2009). The hidden island of addiction: the insula. *Trends in Neuroscience* 32: 56-67.
72. Naqvi NH, Rudrauf D, Damasio H, Bechara A (2007). Damage to the insula disrupts addiction to cigarette smoking. *Science* 315: 531-534.
73. Ohara PT, Granato A, Moallem TM, Wang BR, Tillet Y, Jasmin L (2003). Dopaminergic input to GABAergic neurons in the rostral agranular insular cortex of the rat. *Journal of Neurocytology* 32:131-41.
74. Oyama K, Hernadi I, Iijima T, Tsutsui KI (2010). Reward prediction error coding in dorsal striatal neurons. *Journal of Neuroscience* 30: 11447-11457.
75. O'Doherty J, Kringelbach M L, Rolls ET, Hornak J, Andrews C (2001). Abstract reward and punishment representations in the human orbitofrontal cortex. *Nature Neuroscience* 4: 95-102.
76. O'Neill M, Schultz W (2010). Coding of reward risk by orbitofrontal neurons is mostly distinct from coding of reward value. *Neuron* 68: 789-800.
77. Pais-Vieira M, Lima D, Galhardo V (2007). Orbitofrontal cortex lesions disrupt risk assessment in a novel serial decision-making task for rats. *Neuroscience* 145: 225-231.
78. Parker JG, Wanat MJ, Soden ME, Ahmad K, Zweifel LS, Bamford NS, Palmiter RD (2011). Attenuating GABA(A) receptor signaling in dopamine neurons selectively enhances reward learning and alters risk preference in mice. *Journal of Neuroscience* 31:17103-12.

79. Paulus MP, Rogalsky C, Simmons A, Feinstein JS, Stein MB (2003). Increased activation in the right insula during risk-taking decision making is related to harm avoidance and neuroticism. *Neuroimage* 19: 1439-1448.
80. Paxinos G, Watson C (2007). The rat brain in stereotaxic coordinates, sixth edition (London: Academic Press).
81. Potenza MN (2013). Neurobiology of gambling behaviors. *Current Opinion in Neurology* 23: 1-8.
82. Preuschoff K, Quartz SR, Bossaerts P (2008). Human insula activation reflects risk prediction errors as well as risk. *Journal of Neuroscience* 28: 2745-2752.
83. Ranade SP, Mainen ZF (2009). Transient firing of dorsal raphe neurons encodes diverse and specific sensory, motor, and reward events. *Journal of Neurophysiology* 102:3026-37.
84. Rangel A, Camerer C, Montague (2008). A framework for studying the neurobiology of value-based decision making. *Nature Review Neuroscience* 9: 545-556.
85. Reynolds SM, Zahm DS (2005). Specificity in the projections of prefrontal and insular cortex to ventral striatopallidum and the extended amygdale. *Journal of Neuroscience* 25: 11757-11767.
86. Roberts AC (2011). The importance of serotonin for orbitofrontal function. *Biological Psychiatry* 69:1185-91.
87. Robinson ES, Dalley JW, Theobald DE, Glennon JC, Pezze MA, Murphy ER, Robbins TW (2008). Opposing roles for 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors in the nucleus accumbens on inhibitory response control in the 5-choice serial reaction time task. *Neuropsychopharmacology*, 33:2398-406.
88. Rogers RD, Everitt BJ, Baldacchino A, Blackmore AJ, Swainson R, London M, Deakin JWF, Sahakian BJ, Robbins TW (1999a). Dissociating deficits in the decision-making cognition of chronic amphetamine abusers, opiate abusers, patients with focal damage to prefrontal cortex, and typtophan-depleted normal volunteers: evidence for monoaminergic mechanisms. *Neuropsychopharmacology* 20: 322-329.
89. Rogers RD, Owen AM, Middleton HC, Williams EJ, Pickard JD, Sahakian BJ, Robbins TW (1999b). Choosing between small, likely rewards and large, unlikely rewards activates inferior and orbital prefrontal cortex. *Journal of Neuroscience* 20: 9029-9038.

90. Rogers RD (2011). The roles of dopamine and serotonin in decision making: evidence from pharmacological experiments in humans. *Neuropsychopharmacology* 36:114-32.
91. Rogers RD, Tunbridge EM, Bhagwagar Z, Drevets WC, Sahakian BJ, Carter CS (2003). Tryptophan depletion alters the decision-making of healthy volunteers through altered processing of reward cues. *Neuropsychopharmacology* 28:153-62.
92. Roitman JD, Roitman MF (2010). Risk-preference differentiates orbitofrontal cortex responses to freely chosen reward outcomes. *European Journal of Neuroscience* 31: 1492-1500.
93. Rushworth MFS, Noonan MP, Boorman ED, Walton EW, Behrens TE (2011). Frontal cortex and reward-guided learning and decision-making. *Neuron* 70: 1054-1069.
94. Santana N, Bortolozzi A, Serrats J, Mengod G, Artigas F (2004). Expression of serotonin1A and serotonin2A receptors in pyramidal and GABAergic neurons of the rat prefrontal cortex. *Cerebral Cortex*, 14:1100-9.
95. Santana N, Mengod G, Artigas F (2009). Quantitative analysis of the expression of dopamine D1 and D2 receptors in pyramidal and GABAergic neurons of the rat prefrontal cortex. *Cerebral Cortex*, 19:849-60.
96. Schoenbaum G, Takahashi Y, Liu TL, McDannald MA (2011). Does the orbitofrontal cortex signal value? *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1239:87-99.
97. Schultz W (1986). Responses of midbrain dopamine neurons to behavioral trigger stimuli in the monkey. *Journal of Neurophysiology* 56:1439-61.
98. Schultz W (2011). Potential vulnerabilities of neuronal reward, risk and decision mechanisms to addictive drugs. *Neuron* 69: 603-617.
99. Schultz W, Dayan P, Montague PR (1997). A neural substrate of prediction and reward. *Science* 275(5306):1593-9.
100. Seamans JK, Yang CR (2004). The principal features and mechanisms of dopamine modulation in the prefrontal cortex. *Progress in Neurobiology* 74:1-58.
101. Sevy S, Hassoun Y, Bechara A, Yechiam E, Napolitano B, Burdick K, Delman H, Malhotra A (2006). Emotion-based decision-making in healthy subjects: short-term effects of reducing dopamine levels. *Psychopharmacology (Berl)* 188:228-35.
102. Shi C-J, Cassell MD (1998). Cortical, thalamic, and amygdaloid connections of the anterior and posterior insular cortices. *Journal of Comparative Neurology* 399: 440-468.

103. St Onge JR, Abhari H, Floresco SB (2011). Dissociable contributions by prefrontal D1 and D2 receptors to risk-based decision making. *Journal of Neuroscience* 31:8625-33.
104. St Onge JR, Floresco SB (2009). Dopaminergic modulation of risk-based decision making. *Neuropsychopharmacology* 34:681-97.
105. Stephens DW (1981). The Logic of Risk-Sensitive Foraging Preferences. *Animal Behaviour* 29: 628-629.
106. Takahashi YK, Roesch MR, Stalnaker TA, Haney RZ, Calu DJ, Taylor AR, Burke KA, Schoenbaum GS (2009). The orbitofrontal cortex and ventral tegmental area are necessary for learning from unexpected outcomes. *Neuron* 62: 269-280.
107. Takahashi H (2012). Monoamines and assessment of risks. *Current Opinion in Neurobiology* 22:1062-7.
108. Tanaka SC, Shishida K, Schweighofer N, Okamoto Y, Yamawaki S, Doya K (2009). Serotonin affects association of aversive outcomes to past actions. *Journal of Neuroscience* 29:15669-74.
109. Tobler PN, O'Doherty JP, Dolan RJ, Schultz W (2007). Reward value coding distinct from risk attitude-related uncertainty coding in human reward systems. *Journal of Neurophysiology* 97: 1621-1632.
110. Tom SM, Fox CR, Trepel C, Poldrack RA (2007). The neural basis of loss aversion in decision-making under risk. *Science* 315:515-518.
111. Tversky A, Kahneman D (1981). The framing of decisions and the psychology of choice. *Science* 211: 453-458.
112. Uylings HB, Groenewegen HJ, Kolb B (2003). Do rats have a prefrontal cortex? *Behavioral Brain Research* 146:3-17.
113. Van De Werd HJJM, Uylings HB (2008). The rat orbital and agranular insular prefrontal cortical areas: a cytoarchitectonic and chemoarchitectonic study. *Brain Structure and Function* 212, 387-401.
114. Venkatraman V, Payne JW, Bettman JR, Luce MF, Huettel SA (2009). Separate neural mechanisms underlie choices and strategic preferences in risky decision making. *Neuron* 62: 593-602.

115. Walton ME, Behrens TE, Buckley MJ, Rudebeck PH, Rushworth MF (2010). Separable learning systems in the macaque brain and the role of orbitofrontal cortex in contingent learning. *Neuron* 65:927-3
116. Weber EU, Shafir S, Blais AR (2004). Predicting risk sensitivity in humans and lower animals: Risk as variance or coefficient of variation. *Psychological Review* 111: 430-445.
117. Winstanley CA, Zeeb FD, Bedard A, Fu K, Lai B, Steele C et al. (2010). Dopaminergic modulation of the orbitofrontal cortex affects attention, motivation and impulsive responding in rats performing the five-choice serial reaction time task. *Behavioral Brain Research* 210:263-72.
118. Winter S, Dieckmann M, Schwabe K (2008). Dopamine in the prefrontal cortex regulates rats behavioral flexibility to changing reward value. *Behavioral Brain Research* 198:206-13.
119. Xue G, Lu Z, Levin IP, Bechara A (2010). The impact of prior risk experiences on subsequent risky decision-making: The role of the insula. *Neuroimage* 50: 709-716.

補足 1. リスクの定義

リスクの定義は多様であるが、経済学や神経経済学では結果の不確実性の一種として定義されている (Knight, 1921; Ellsberg, 1961)。不確実性は3つに分類される。まず、どのような結果が生じるかすら分からないものは無知性 (ignorance) とされる。次に、生じ得る結果は分かっているものの、その確率が分からないものは曖昧性 (ambiguity)、確率が分かっているものはリスク (risk) とされる。リスクを評価する上では、生じ得る結果が複数あるとしてそれらの内容の違いとそれぞれが生じる確率が問題となる。例えば A か B のどちらかが 50% で生じるというリスクがあるとして、そもそも A と B の内容が大差ないものであればこのような状況は大した問題にはならない。しかし A と B が 100 万円の獲得と損失であれば大いに憂慮すべき問題となるだろう。結果の内容の差が大きくなるほどリスクは大きくなると言える。一方これを確率の観点で見ると、A が生じる確率が 99.9% で B が生じる確率が 0.1% であれば概ね B の可能性は無視でき、やはりこのような場合は大した問題とはならない。確率が 50% では結果の見通しが最も困難になるためリスクは最も高く、確率がどちらかに偏るほど見通しがつきやすくなりリスクも小さくなると言える。こうした問題は数学的には分散として扱うことができ、分散が大きくなるほどリスクは大きくなる。分散はすなわち期待値への収束しにくさである。本文で挙げた宝くじの例では期待値は投資額を下回っているが、分散が大きいため期待値に収束する可能性は低い。この点においては少額の範囲で宝くじを買うことは必ずしも誤りではない。ただし期待値と分散だけをもってリスクを伴う意思決定の行動原理を説明することは危険である。原理的には通常の宝くじで設定されている期待値と分散を変えないようにしながら、当たっても損失、外れを引くと大損失を出す無意味な宝くじを設計することが可能であるからである。その他、変動係数や確率分布の歪度・尖度もリスクの重要な要素となってくる。

上述したリスクの定義は我々が日常的に使うそれとかなり異なるものに思われるかもしれない。しかし起こり得る結果が複数存在する際には必然的にそれぞれの相対的な価値の差、結果の良し悪しが発生するため、我々が日常的に使う「良い結果が得られるかもしれないが悪い結果となるかもしれない」という意味でのリスクと大きな違いはない。いずれにしても我々がリスクを問題視することの本質は、結果が予測できない不確実性にあり、リスクを伴う選択肢と結果が保証されている選択肢のどちらを選ぶのかを決める意思決定の神経基盤の解明が本研究の最終的な目的である。本研究では、「リスク」を上記のような文脈で用いる。

参考文献 : Christopher J. Burke, Philippe N. Tobler (*Frontiers in Neuroscience*, 2011).

補足 2. リスクを伴う意志決定に関する行動学的知見

ヒトにおける研究

リスクを伴う意志決定に際するヒトの行動原理を経済学的側面から説明しようとする説として、期待効用理論（Oskar Morgenstern と John von Neumann によって創始）とプロスペクト理論（Tversky and, Kahneman 1981）がある。これらを解説する前にまず以下に 2 つの例を挙げる。いずれも選択肢 X か Y のどちらか 1 つを選ぶ選択問題である。

例 1 : X を選ぶと必ず 1 万 5 千円得られる。一方 Y を選ぶと 50% の確率で 4 万円得られるか何も得られないかとなる。

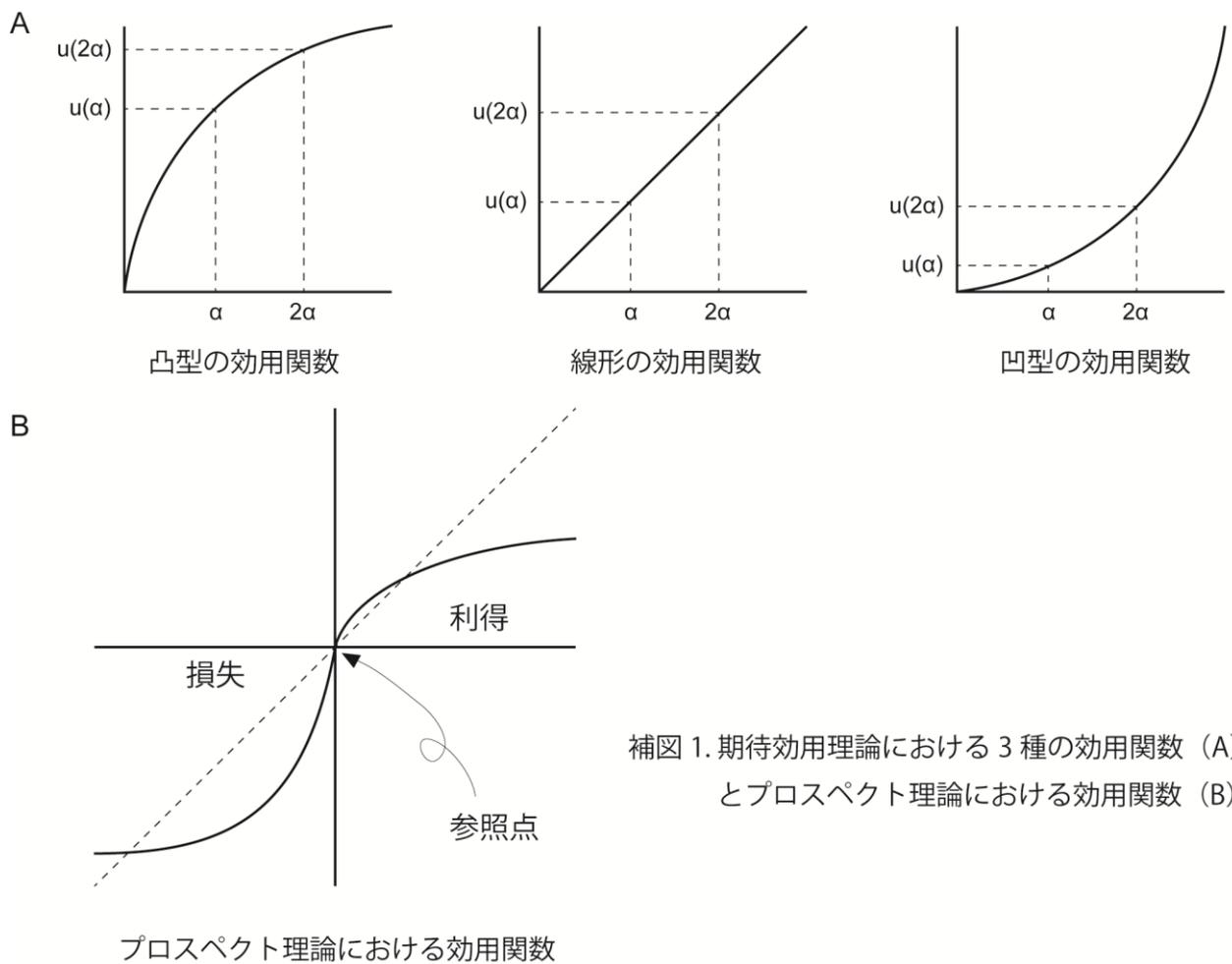
例 2 : X を選ぶと必ず 1 万 5 千円失う。一方 Y を選ぶと 50% の確率で 4 万円失うか何も失わないかとなる。

おそらく多くの人が直感的には例 1 では X を、例 2 では Y を選ぶだろう。実際ヒトは例 1 のような場合にリスク回避性を、例 2 のような場合にリスク選好性を示すことが知られている。しかしいずれの選択も数学的な期待値には反している。これらの行動原理を先に挙げた 2 つの理論は以下のように説明する。

まず期待効用理論では客観的（数学的）価値とは別に主観的価値、つまり効用という概念を取り入れ、効用関数の性質によって行動原理を説明する。例えば確実に α が得られるリスクがない選択肢と、確率 50% で 2α が得られるか 0 となるかのリスクがある選択肢を考える。ここで客観的価値 x に対する主観的価値を $u(x)$ とする。すると選択は $u(2\alpha)$ と $2 \times u(\alpha)$ のどちらの価値が高いかで決まることになる。補図 1A の中央のグラフでは効用関数が数学的価値と同義なので、このような価値基準を持つ場合は期待値に沿って選択を行う（ $u(2\alpha) = 2u(\alpha)$ ）、すなわちリスクに対し中立である。一方図左の凸型の効用関数を持つ場合は $u(2\alpha) < 2u(\alpha)$ となるのでリスク忌避性を示す。そして図右の凹型の効用関数を持つ場合は $u(2\alpha) > 2u(\alpha)$ となるのでリスク選好性を示す。さらに何を判断の対象とするかでこの効用関数の形が変化することを示したものがプロスペクト理論である。具体的には、補図 1B のようにヒトは一般に利得に関しては凸型の効用関数を持ちリスク回避性を示すが、損失に関しては凹型の効用関数を持ちリスク選好性を示すことを説明している。特に 2 つの切り替わりとなる 0 点が、絶対的なものではなく何を参照するかによって変わる相対的なものである点が重要であり、これはフレーミング効果と呼ばれる。

このようにプロスペクト理論は、例 1・2 で見られた期待値に反するヒトの価値判断を的確

に記述している。しかしこれに当てはまらない例も多く存在し、現段階においても完全な理論とはなっていない。また期待効用理論やプロスペクト理論には前提条件やその他の重要な法則があるがここでは割愛する。



動物における研究

ヒト以外の動物においても、特に心理学では鳥類、生態学では昆虫を中心に古くからリスクを伴う状況においてどのような行動選択を行うのかが調べられてきた。Kacelnik と Bateson は、哺乳類をはじめ鳥や魚、昆虫など 29 種を含む 59 の研究で報告された様々な動物種のリスク評価傾向をメタ解析することにより (Kacelnik and Bateson, 1996)、ヒト以外の動物においても報酬の獲得の際に伴うリスクに対し回避性を示すかまたは無関心であることを報告している。Kacelnik と Abreu はウェーバーの法則を用いて、この性質の説明を試みた (Kacelnik and Abreu, 1998)。ウェーバーの法則では、量 (刺激の大きさ) が少ないほど弁別閾が狭くなるとされる。逆に量が多くなるほど弁別閾が広がってしまう。この法則下では、報酬獲得の際、リスクを伴う選択肢は過小評価されることになる。しかしウェーバーの法則だけでは説明できない例もある。例えば Caraco らがスズメの一種である *junco heymalis* を用いて行った研究 (Caraco, 1981) では、環境条件によってリスクに対する評価傾向が変化することが示された。気温条件を 19°C にして実験を行った場合、スズメはリスク回避性を示した。ところが気温条件を 1°C にして実験を行った場合、スズメは逆にリスク選好性を示すようになった。ギャンブル課題の選択にウェーバーの法則のみが反映されているとすると、リスクに対する評価の逆転は生じないはずである。この現象について Stephens は energy budget (エネルギー収支) によって動物が戦略的にリスクに対する評価を変えるという Energy budget rule (エネルギー収支則) を提唱した (Stephens, 1981)。エネルギー収支則では Caraco (1981) の研究例を以下のように説明している。気温条件が低くなるほど、スズメは体温を保つためより多くのエネルギーを消費するので、生存に必要な餌の量が多くなる。気温条件が 1°C の場合、リスクを伴わない選択肢によって得られる報酬の量ではスズメは生きていくのに不十分である。そこでスズメは生存するのに必要な量を得ることができる可能性があるリスクを伴う選択肢を選択するようになった。一方、気温条件が 19°C の場合、リスクを伴わない選択肢によって得られる報酬量は生存に十分な量なので、リスクを嫌い、リスク回避性を示したというわけである (Bateson, 2002)。生態学では、このエネルギー収支則を基として最適採餌理論が提唱されている (Mcnamara and Houston, 1992)。

期待効用論とプロスペクト理論に関する参考文献：

意思決定の基礎（朝倉書店） 松原 望

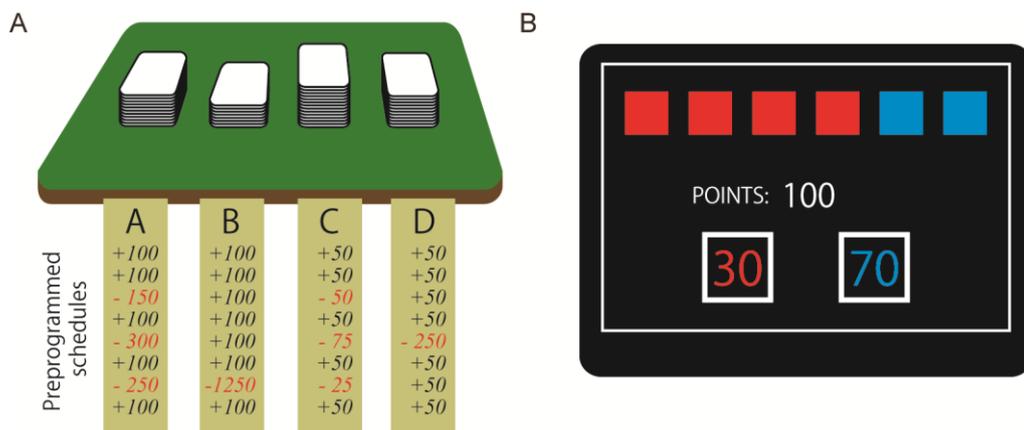
行動経済学—感情に揺れる経済心理—（中公新書） 依田 高典

補足 3. アイオワギャンブル課題とケンブリッジギャンブル課題

前頭眼窩野はその名の通り、眼窩に沿った脳領域、前頭葉の前方部の脳底に位置する領域である（補図 3A）。Bechara (1994)らはアイオワギャンブル課題を用いてこの前頭眼窩野（を含む前頭前野腹内側）の損傷により、近視眼的な利益に目を奪われ長期的な見通しが失われることを初めて実験的に示した。

アイオワギャンブル課題は、できるだけ多くの金銭の獲得を目指して4つのカードの山から1枚ずつカードを選ぶ選択課題である（補図 2A）。カードの裏には獲得できたあるいは支払うべき金額が書かれている。4つの山のうち2つ（A, B）はハイリスクハイリターンであり、獲得できる金額が大きい失う額も大きく、これらを選び続けても最終的には損をするようになっている。一方他の2つの山（C, D）はローリスクローリターンであり、獲得できる金額が小さい失う額も小さく、最終的には得をするようになっている。プレイヤーは課題中、合計獲得（損失）金額および残りの試行数を知らされない。実際の実験では、2000ドルが始めに貸し付けられ、それを元手に「止め」と言われるまでカードの選択を繰り返し、できるだけ多くの金銭を獲得するよう要求された。AとBははじめどちらも100ドル得られるカードが連続するが、その後Aでは頻繁に150や300ドルといった損失が出、Bでは低頻度で1250ドルの損失が出る。一方CとDははじめどちらも50ドル得られるカードが連続するが、その後Cでは頻繁に50や75ドルといった損失が出、Dでは低頻度で250ドルの損失が出る。健常なプレイヤーの多くは一通り4つの山からそれぞれカードを選択した後、100ドルが得られるAやBを選択し、AやBで大きな損失が出始めると、CやDからカードを選ぶよう選択を切り替えた。ところが前頭眼窩野を含む前頭前野腹内側部を損傷した患者らはAやBで大きな損失が出てCやDに切り替えず、AやBを選び続ける傾向を示した。合計金額や各山の期待値は知らされておらず、実際プレイヤーもそれらを計算し正確に把握していなかったことから、この課題の結果はプレイヤーの、リスクに対する感受性に基づいた長期的な利得の予測を反映しているものだと考えられる。つまり前頭眼窩野を含む前頭前野腹内側部の損傷により、近視眼的な利益に目を奪われ長期的な見通し持つことが損なわれることを示している。

しかしこのアイオワギャンブル課題では各選択肢に関する情報（どの山にどのようなカードがどれぐらい含まれているか）がプレイヤーに明かされていなかったため、前頭眼窩野損傷患者が示したリスク選好性が、意思決定の障害によるものなのか、学習障害、すなわちワーキングメモリーや逆転学習の障害によるものなのかが分離されていなかった。そこで



補図2. アイオワギャンブル課題 (A) とケンブリッジギャンブル課題 (B)

Bechara (1998)らは前頭前野腹内側部の損傷患者と前頭前野背外側部の損傷患者を対象に、アイオワギャンブル課題に加え遅延反応課題における成績を比較し、ワーキングメモリー障害は主として背外側部損傷によって、意思決定障害は主として腹内側部損傷によってそれぞれおおよそ独立して生じることを示した（但しその後、背外側部がリスクを伴う意思決定に関与していることを示す例も多く報告されている（Knoch et al., 2006; Fecteau et al., 2007））。

一方、Rogers (1999)らは学習の要素を排除したケンブリッジギャンブル課題を用い（Rogers et al., 1999a; Rogers et al., 1999b）、PETを用いた脳機能イメージングの実験を行った（補図2B）。この課題内容は以下の通りである。コンピュータ画面上に6つの箱が赤・青いずれかの色で示されており、6つの箱の内1つに“当り”が隠されている。プレイヤーは赤色と青色の箱のどちらの中にも当りがあるかを選択するが、この際同時にそれぞれの色に対し賭けなければならないポイントが提示されている。当たればそのポイントを得ることができるが、外れれば失うことになる。箱の色づけの比率は5:1・4:2・3:3の3条件、賭けるポイントは10 vs. 90・20 vs. 80・30 vs. 70・40 vs. 60・50 vs. 50の5条件が用いられた。プレイヤーははじめに100ポイント与えられ、できるだけ多くのポイント獲得を目指すよう指示された。行動データとして選択率だけでなく、選択に要した時間（意思決定の速度：これを難度と読み替えることができる）が測定された。統制条件との差分で得られた局所脳血流量の増加は様々な脳領域において観察されたが、彼らが特に注目したのは、意思決定の難度と関連した活動は特に前頭眼窩野で特徴的に観察されたのに対し、前頭前野背外側部には見られなかった点である。この結果は前述のBechara (1998)らの報告と一致している。

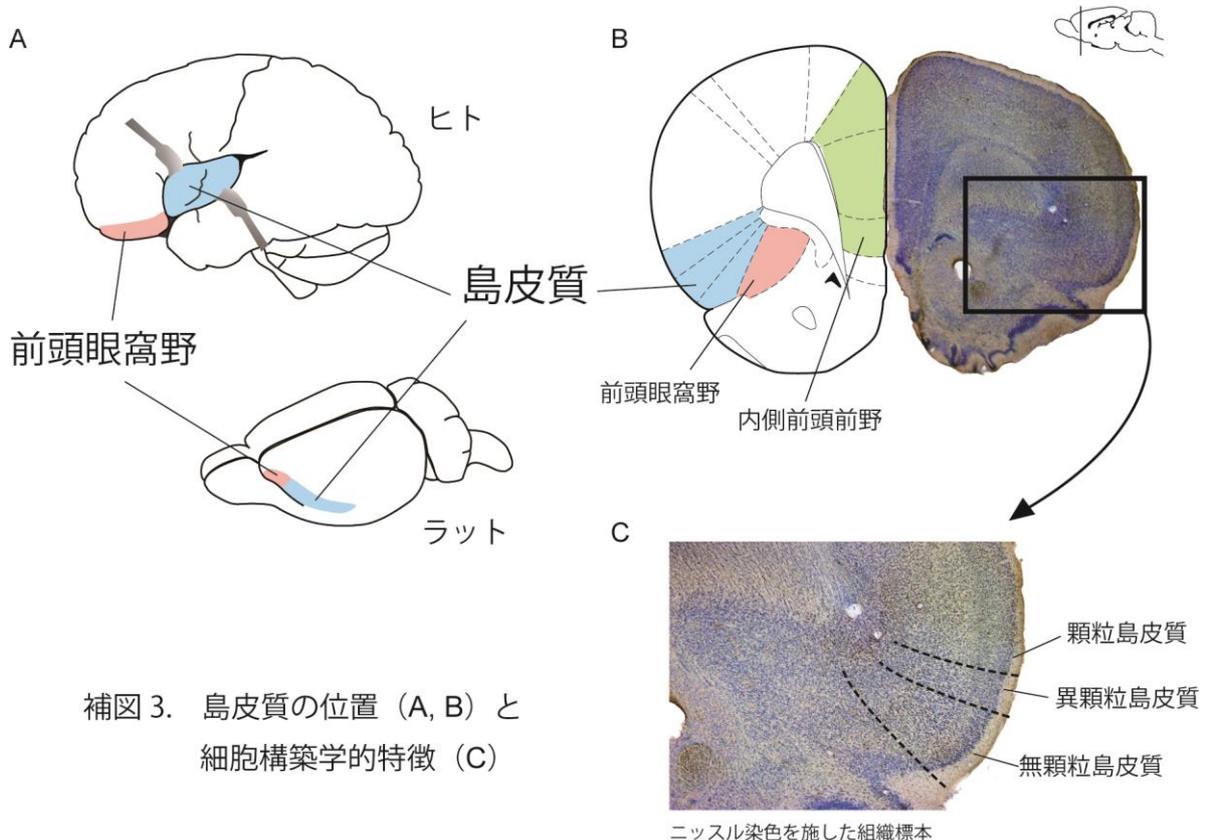
*リスクの定義は不確実性の内、何がどれぐらいの確率で起こり得るかが既知であるものを指すため、アイオワギャンブル課題は厳密にはリスクではなく無知性を扱っていると考えられる。但し繰り返しカードを選択していく中で、各山の性質（どんなカードがどれくらい含まれているか）が明らかとなってくるため不確実性の度合いは徐々に変化していく。一方ケンブリッジギャンブル課題ではその点が改善され、結果の中身と生起確率を明示した上でプレイヤーに選択を行わせている。尚、著者の行動実験デザインではセッションのはじめに学習期間を設け、各選択枝の結果の中身と生起確率をラットに学習させている。

補足 4. 島皮質

島皮質は大脳新皮質の 1 領域であり、ラットでは側頭の最も外側、嗅脳溝に沿って位置し、ヒトでは周囲の皮質に埋もれているため外側溝の奥に位置する（補図 3A）。前頭眼窩野に隣接する領域であり、ヒトでも脳底部方向から見ると 2 領域が連続していることが分かる。

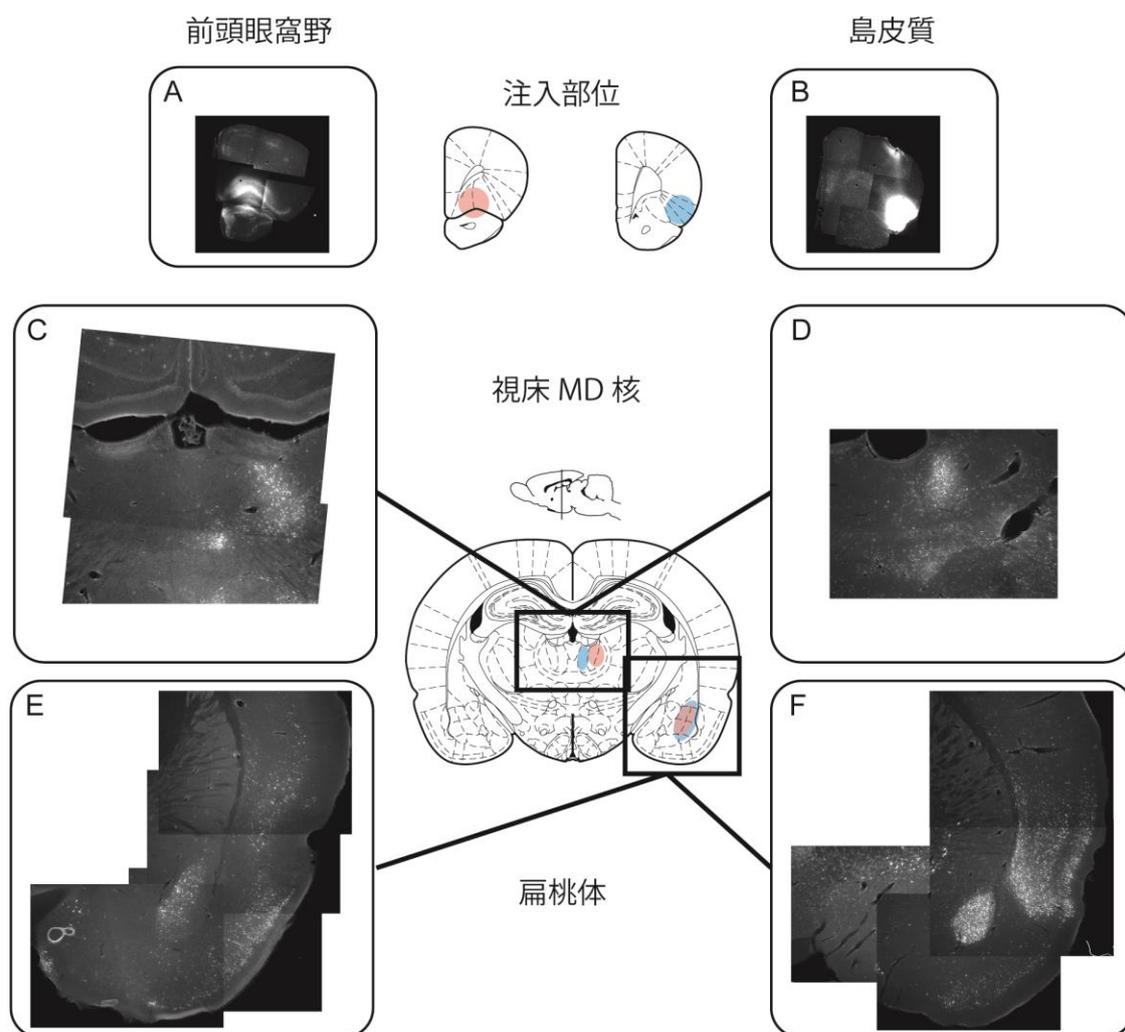
解剖学的特徴

島皮質は細胞構築学的な層構造の違いにより顆粒島皮質、異顆粒島皮質、無顆粒島皮質の 3 つに大別される（Mesulam and Mufson, 1982; 補図 3BC）。記述した順に背側から腹側方向に並び、その順のまま帯状に吻尾側方向に細長く広がっている。但しそれぞれが島皮質の中で占める割合は吻尾側方向で異なっており、またサルやヒトなど高等な種になるほど顆粒島皮質・異顆粒島皮質が占める割合が増す。一方機能的にはこれら細胞構築学的差異ではなく、吻尾側方向に前部、（中部）、後部と分けられることも多い。この場合の境界は明確ではないが、他領域との結合関係の違いに基づいて大まかに分けられている。例えば中後部には味覚・痛覚・内臓感覚に関わりが深い領域が存在することが知られているが、それぞれの領域は関係する感覚情報を処理する視床・感覚野から投射を受けている（Shi and Cassell, 1998）。詳細には島皮質にはほぼ全ての種類の感覚入力があり、後部ではそれぞれがユニモダルに情



補図 3. 島皮質の位置 (A, B) と細胞構築学的特徴 (C)

報処理されているが、前部にいくほどマルチモダルな情報表現になっていくとされている。このように島皮質後部が感覚情報の入力部となっているのに対し、前部は他の皮質領域や大脳基底核への出力部として機能していると考えられている。機能的な側面を考える際には、近年では島皮質前部は前頭前野に含まれることも多く (Uylings et al., 2003)、解剖学的にも前頭前野に定義される評価基準の一つである視床 MD 核から投射を受けている (補図 4D)。



補図 4. フルオロゴールドを用いた逆行性トレーシング

逆行性化学トレーサーであるフルオロゴールド (FG) を島皮質前部と前頭眼窩野にそれぞれ注入しどの領域から投射を受けているか調べた。C, E は前頭眼窩野 (A) への FG 注入実験の結果、D, F は島皮質前部 (B) への FG 注入実験の結果である。いずれも視床 MD 核に標識神経細胞が見られるものの、前者では外側に、後者では内側に分布が偏っていることが確認できる。F からは扁桃体が島皮質前部に強い投射を送っていることが分かる。

方法：ウイスターラット雄 250g を用いた。FG 注入にあたっての施術方法は本薬理実験と同一である。また注入座標も薬理実験の標的座標と同じとなるよう、前頭眼窩野 (AP: 4.2 mm, ML: +2.2mm, DV: -3.7)、島皮質 (AP: 3.0 mm, ML: +4.4mm, DV: -4.3) とした。注入にはガラス管 (径 1mm) をプラーで引いて先端を細くしたものを用い、ポリエチレンチューブを介して 1 μ l ハミルトンシリンジと接続し、中は流動パラフィンを充填した。FG はガラス管先端から必要量だけ吸い、注入用ポンプを用い 100nl を速度 50nl/min で注入した。注入後拡散させるため 30 分静置した。1 週間後灌流固定を行い脳を摘出、50 μ m 薄切片にて組織観察した。

機能：島皮質と情動行動

扁桃体や海馬とも密接な結合関係を持ち（Delatour and Witter, 2002; Reynolds and Zahm, 2005; 補図 4F）、特に島皮質前部は情動行動に関与すると考えられている視床背内側部からの入力を受けている（Shi and Cassell, 1998）ことから、感覚情報の統合だけでなくそこに情動情報を付加する過程においても重要な役割を果たすと考えられている（Craig, 2003）。実際、高温や低温などの温度刺激に対し、島皮質後部ではその刺激強度に相関した賦活化が、島皮質前部では主観的な評価に相関した賦活化が見られる（Craig et al., 2000; Kong et al., 2006）。さらに島皮質は感覚刺激に対する情動表現の形成だけでなく、形成した情動表現を再現することで予期的な情動反応・行動を引き起こす役割も担う可能性が指摘されている（Craig, 2009）。例えば脳卒中により島皮質を損傷した喫煙者では損傷後タバコに対する中毒症状が低下する（Naqvi et al., 2007）。またアンフェタミンを用いて場所の選好を条件付けたラットにおいて島皮質を不活性化すると、条件付けられた場所への滞在時間が減る（Contreras et al., 2007）。これらは島皮質の機能不全により予期的な快情動反応が生じなくなったため行動の動機が損なわれたと解釈することができる。一方電気生理学的研究では、報酬への期待、つまり予期的な快情動反応を表現するニューロンの存在が報告されている（Asahi et al., 2006; Misuhiki et al., 2012）。

補足 5. 実験方法に関する補足

補足 5-1. 行動課題設計の意図

- ・リスクがある選択肢における確率条件を変動させるのではなく、リスクがない選択肢における報酬条件を変動させて選択率の変化を測定した点について

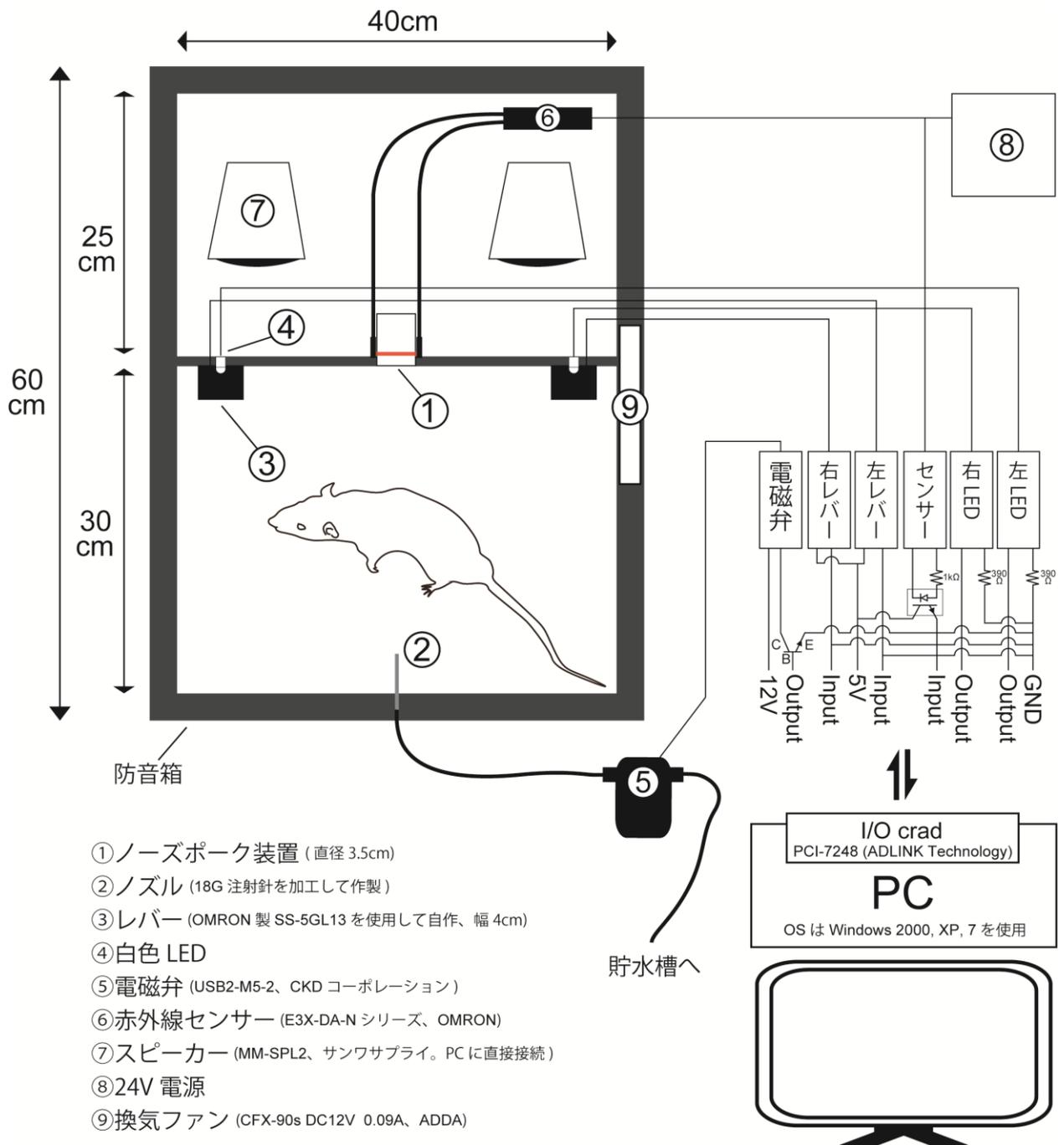
過去の研究の多くは、リスクがある選択肢における確率条件を変動させ選択率の変化を計測していた。当初著者もそれに倣って予備実験を行ったが、同じ確率条件であってもセッション毎に大きく選択率が異なり、結果が非常に不安定になるという問題に直面した。これは確率事象を学習するためには多くの試行を重ねる必要があり、確率条件をある程度高い水準で学習することは難易度が高かったためと考えられる（先行研究ではサンプル数を増やすことで結果のバラツキに対応していたと思われる）。そもそも経験を通じて確率事象を学習させた場合、短期・中期的には確率条件が大きく変動してしまうという問題が存在する。例えば報酬が得られる確率が 12.5%では 8 回に 1 回しか報酬が発生しないため、最後の 1 回で報酬が発生した場合には確率は 7 回目までは 0%になってしまう。このような問題を防ぐためには試行数を増やすしかないが、リスクがある選択肢を多く経験させると、今度は報酬条件ではなくレバーの位置に対する嗜好性あるいは習慣がついてしまう。かといってリスクがない選択肢を経験させる回数も増やすと、こちらは毎回報酬が得られるためラットが満足してしまい課題を遂行しなくなる。最終的に 1 回あたりの報酬量を減らすことで対応しようとする、電磁弁の制御上の問題で少ない水量（100ms 以下の開閉）では正確な水量を担保できなくなった。よって本研究では、リスクがない選択肢を設定し、報酬条件を変動させて選択率の変化を測定することにした。

- ・ブロックデザインを用いなかった点について

ブロックデザインとは、1 つのセッションを複数のブロックに分割して、ブロック毎に実験条件を変動させていく方法である。同じセッション内で各条件を比較できるという利点があり、特に薬理実験では薬剤投与試験の回数に限りがあるため有用である。一方で、短期間で報酬条件を変動させると、前のブロックの条件に影響を受けやすくなるという欠点もある。例えば、はじめのブロックで右レバー {4 滴 100%} vs. 左レバー {2 滴 100%} を試験し、次のブロックで右レバー {4 滴もしくは 0 滴 50%} vs. 左レバー {2 滴 100%} を試験した場合、1 つ目のブロックの影響を受けて 2 つ目のブロックでは右レバーを選択する割合が高めになることがある。正解不正解があるような課題ではこの問題が生じているかどうかを見分けることが可能だが、自由意思に基づく選択を評価するような課題では判断が付かない。ブ

ロックデザインには他にも、セッション後半で報酬に対する満足度などが大きく低下するような場合には前後半でブロック間に影響の差が生じてしまう問題がある。ブロックが進むにつれ条件が変動し、その都度再学習を行う必要があるため、後半のブロックほど学習の負荷が大きく、薬剤処理がこの点に影響すると、本研究ではそれが致命的な問題となり得る。以上の点から本研究ではブロックデザインを用いなかった。

補足 5-2. 行動実験装置の設計 (詳細、補図 5)



補足 5-3. 行動課題の訓練の詳細と工夫

レバー押しやノーズポークなど、基本的な動作をラットに訓練することは非常に簡易であった。より短期間で学習させたい場合には一時的に衝立などを利用して行動実験装置を狭くし、移動の際に偶然にレバーを踏む確率を上げてやるとよかった。一度レバー押しを覚えると、かなり高頻度で連続して長時間レバーを押し続けるようになるが、片方のレバーのみを押し続けるようならすぐに次のステップに進んだ。片側のレバー押しのみを過度に訓練すると、もう片側を押すように訓練するのに必要以上に時間を要することがある。LEDを用いた強制選択の訓練ではまずセッション毎にどちらかのレバーのみを指定し、それにより左右にレバーがあることを把握させた。それぞれのレバーに対する押し動作が円滑になるまで訓練する（はじめは後肢で踏んだり腹を押し付けたりすることがある）。この段階では1つのセッションとして特に時間や試行数を定めていなかった。2時間であったり、500試行であったり、ラットがやらなくなるまでであったり、適当な基準を設けるとよいと思われる。本研究では1時間を1つのセッションとし2~3時間空けて一日に2~3回行った。次のステップでは同じセッション内で10回ずつ左右のレバーを交互に押させた。右レバーを押すのに10回成功したら次は左を押すのに10回成功するよう、訓練するとよかった。ある程度できるようになったら、その次のステップとしてランダムにレバーを指定して訓練する。前のステップと同様、矯正試行を設定し間違えた場合は再び間違えたレバーを押すよう指定した。はじめの内はどちらか得意な方のレバーの正答率が高く、苦手な方は50%を下回った。複数回セッションをこなすうちに次第に成績は向上し、およそ10セッション程度で正答率は90%を上回るようになった。ノーズポークはラットが自然に行う行為であるため、すぐに学習する。2セッション程度で学習した。時間がかかる場合にはノーズポーク穴に水を数滴垂らして注意を引くとよい。

行動課題の訓練で最も問題となった点は、ラット毎に左右どちらかのレバーに対し好みがあることが非常に多いことである。時として、明らかに報酬条件に優劣がある場合でも位置への好みは優先されてしまうことがある。この問題は訓練の初期段階から現れ、最後まで注意を払わなければならない。このような癖を持ったラットを用いると、報酬条件の優劣が僅差であるような場合、例えば{4滴もしくは0滴 50%} vs. {2滴 100%}の選択では、位置への好みは深刻に影響してくる。この問題を最初に目にするのは報酬条件（量あるいは遅延時間）を弁別させる訓練を行う段階である。この癖を持っている場合、{4滴 100%} vs. {2滴 100%}を選択させた時、好みのレバー位置に4滴が割り当てられた時と苦手なレ

バー位置に割り当てられた時では選択率に大きな差が生じてくる。通常はセッション毎に報酬条件を左右で入れ替えカウンターバランスを取るべきであるが、このような傾向が少しでも見られた場合は、苦手なレバー位置に良い報酬条件を割り当てたセッションを連続して繰り返した方がよい。この問題への対応が遅れると長期にわたって苦しめられることになる。

補足 5-4. ガイドカニューレと注入用カニューレの作製方法

ガイドカニューレと注入用カニューレは注射針を加工して自作した。本研究ではガイドカニューレには 23G (テルモ社製、外径 0.6mm) を、注入用カニューレには 30G (テルモ社製、外径 0.3mm、歯科用) を利用した。デンドロニクス社製歯科用注射針に 33G (外径 0.26mm、但し内径はテルモ社製 30G と同じ) があるので、こちらを注入用カニューレとして用い、ガイドカニューレに 25G (外径 0.5mm) を用いるとより組織へのダメージが小さくできるだろう。ガイドカニューレは注射針の先端部を必要な長さ分ローターで切り落とし、切断面を綺麗に平面に研磨しバリを取り除いて作製した。必要な長さとは (脳表から目的部位までの距離 - 1mm) + (頭蓋からはみ出る部分。スーパーボンド・デンタルセメントで頭蓋に接着する部分になる。) である。注入用カニューレは基本的には注射針をそのまま利用するが、先端の端面は平面になるように削って用いた。またガイドカニューレに挿入した際に 1mm だけ飛び出すようにストッパーとなる部分を設けた。ストッパーにはガイドカニューレと同じ径の注射針を用い、5mm 程度に切断したものに注入用カニューレを通してアロンアルファで接着した。ストッパーの端面は少なくともガイドカニューレと接する面は必ず切断面を綺麗に平面に研磨しバリを取った。

ガイドカニューレを埋め込む手術の際には、ガイドカニューレがしっかりと合まる径の注射針 (23G を用いた場合は 20G にちょうど合まる) を継手にして長さをかせぐと埋込作業が行いやすかった。ガイドカニューレがしっかりと頭蓋骨に接着されていれば、そのまま上に引き抜けば継手部分は外せた。

注入用カニューレとハミルトンシリンジとを接続するためのポリエチレンチューブの内径は注入用カニューレの外径よりもやや小さいものを用いると密着性が増し、圧注入の際に接続部からの液漏れがなくなった。今回は夏目製作所製ポリエチレンチューブ SP10 内径 0.28mm 外径 0.61mm を用いた (33G には SP8 内径 0.20mm 外径 0.50mm を用いるとよい)。ポリエチレンチューブとハミルトンシリンジの接続部は、径の異なるチューブで継いだ。接続部の密着性に不安がある場合には、シリコンや蝋で周囲を覆ってやるとよいだろう。

補足 5-5. 薬剤注入方法

薬剤注入にあたってはおよそ 10 分弱ラットを安静な状態を保つ必要があるため、普段からハンドリングを頻繁に行い順化した。さらに薬剤を試験する前の 5 セッションでは事前に本番とほぼ同様の疑似的な注入操作を行って、作業そのものに十分に順化した。これらを怠ると本番の薬剤注入中に暴れてカニューレが外れてしまったり、注入操作自体は上手くいってもラットがショックを受けて普段通りに行動課題を遂行しなかったりすることがある。薬剤注入はラットを実験者の膝の上で安静にさせた状態で行った。良く順化されたラットは大半は大人しく静止しており、動き回ったとしても興奮状態にはないため手でやさしく制止してやれば暴れることはなかった。但し毛繕いをはじめると前肢や後肢を使って頭部を引掻くので、注入用カニューレおよびチューブを保護するためバイザーを装着した。

疑似注入では薬液の注入以外本番と同じ作業を行った。但し注入用カニューレは疑似注入用のものを用いた（設計は同じ）。作業は以下の通りである。まずラットを膝の上で安静にさせ頭部のキャップを取り代わりにバイザーを装着、方半球のダミーカニューレを引き抜き代わりに疑似注入用カニューレを挿入する。2 分間注入用ポンプを動かし、1 分間そのまま静置する。この間にダミーカニューレをエタノールと超純水を使って洗い水気を拭き取る。その後疑似注入用カニューレを引き抜き、再びダミーカニューレを挿入する。疑似注入用カニューレの挿入部もエタノールと超純水を使って洗い水気を拭き取った上で、もう片半球に対しても同じ作業を行う。本番では必ず注入の前と後に、注入用カニューレの先端から薬液が出てくることを確認する。注入後、注入用カニューレの先端が詰まっており薬液が出てこないことがあった。細いワイヤーで詰まりを除去した途端、薬液が流出を始めるので、こうしたケースでは脳内に薬剤が注入できなかったと考えられる。おそらくガイドカニューレの壁面に凝固した血があり、注入用カニューレ挿入時にそれをひっかけてしまい先端に詰まったのだろう。そこでダミーカニューレを引き抜いた後、一度疑似注入用カニューレをガイドチューブに挿入しガイドチューブ内の汚れを除去した。

放射線同位体でラベルしたムシモールを用いて行われた Edeline らの研究 (Edeline et al., 2002) や著者の同量の染色物質を用いた実験 (図 1-4) から、薬剤 100nl を 50nl/min+1 分間の静置で注入するとおよそ直径 1.5mm 程度の範囲で拡散すると考えられる。この注入量は目的領域をカバーするのに十分な量であると考えられる。第 2 章ではドーパミン受容体阻害剤の前頭眼窩野への局所注入はリスク選好性に影響を及ぼさなかったが、これは前頭眼窩野にドーパミン作動性ニューロンの投射がほとんど見られないという解剖学的知見と一致してい

ると考えた。しかし過去の複数の行動薬理学的研究においてはドーパミン受容体阻害剤の局所注入がラット前頭眼窩野の機能に影響を与えたという結果が報告されている（Calaminus and Hauber, 2008; St Onge *et al*, 2011; Winter *et al*, 2009; Winstanley *et al*, 2010）。ところがこれらの研究では薬剤の注入量が 500 nl と本研究の 100 nl よりも多い。もしかするとこれらの先行研究では薬剤の効果が前頭眼窩野を超えてドーパミン作動性ニューロンの投射を受ける他の脳領域に拡散していたのかもしれない。

補足 6. ギャンブル課題におけるラットの行動についての補足考察

なぜギャンブル課題において多くのラットはリスクがある選択肢とリスクがない選択肢の期待値が等価であるにもかかわらずリスク選好性を示したのであるだろうか。はじめにリスクがある選択肢の報酬条件をラットが理解していない可能性は、リスクがない選択肢の報酬条件を変えると選択率も変化したことから除外できる。すなわちラットはより良い報酬条件を目指し、報酬量に関するギャンブル課題ではより多くの水が手に入る可能性に、報酬が得られるまでの遅延に関するギャンブル課題ではより早く水を手に入れられる可能性に誘引されリスクを冒す傾向を示したと解釈できるだろう。期待値は等価であるからセッション全体を通して見ればどちらの選択肢を選んでも、得られる水の量や同量の水を得るまでに要する時間は同じである。よって何度もこれらの行動課題を経験していても、ラットは1回1回の選択を短期的な視点で行っていたと考えられる。興味深いのは履歴効果である。前の試行でリスクを冒して勝った後と負けた後では、負けた後の方が次の試行で再びリスクを冒す割合が高かった。これについては個体間やセッション間で大きくバラついてはいたが、少なくとも、リスクを冒して勝つ→負けるまでリスクを冒す→負けた後はリスクを回避する→再びリスクを冒す、という単純な行動を繰り返していたわけではないと言えるだろう。あるいは、負けた後の方が次勝てる確率が高いという主観的な期待をもって選択を行っていたのかもしれない。このように選択自体は数試行という短い枠の短期的な観点に基づいていた可能性が高い。

一方リスク選好性はラットの水に対する欲求度にも影響を受けていた可能性がある。著者の修士論文の予備実験では、前日に行動課題以外に追加で水を 10ml 与えた場合、翌日のリスク選好性が減少するという効果が見られた（但しリスクがある選択肢を選んだ割合が 50%を下回るわけではなかった）。しかし得た水の量とリスク選好性の度合いの関係は、セッション間やセッション内での比較では見られなかった。具体的には本研究では一日に最大 3 セッション試験したが、1 回目のセッションと 2 回目、3 回目のセッション間で選択率の差は見られなかった。これはセッションとセッションの間に 3 時間以上という十分な間隔を空けたため、ラットの水に対する枯渇状態に十分に元に戻っていたのかもしれない。またセッション内変動に関しては、反応時間がセッションの後半に向けて次第に遅くなっていくのに対し、選択率は変動しなかった。よってリスク選好性が水に対する欲求度にも影響を受けていたという可能性は高いとは言えないかもしれない。

Inactivating Anterior Insular Cortex Reduces Risk Taking

Hironori Ishii,¹ Shinya Ohara,¹ Philippe N. Tobler,² Ken-Ichiro Tsutsui,¹ and Toshio Iijima¹

¹Division of Systems Neuroscience, Tohoku University Graduate School of Life Sciences, Sendai 980-8577, Japan, and ²Laboratory for Social and Neural Systems Research, Department of Economics, University of Zurich, 8006 Zürich, Switzerland

We often have to make risky decisions between alternatives with outcomes that can be better or worse than the outcomes of safer alternatives. Although previous studies have implicated various brain regions in risky decision making, it remains unknown which regions are crucial for balancing whether to take a risk or play it safe. Here, we focused on the anterior insular cortex (AIC), the causal involvement of which in risky decision making is still unclear, although human imaging studies have reported AIC activation in various gambling tasks. We investigated the effects of temporarily inactivating the AIC on rats' risk preference in two types of gambling tasks, one in which risk arose in reward amount and one in which it arose in reward delay. As a control within the same subjects, we inactivated the adjacent orbitofrontal cortex (OFC), which is well known to affect risk preference. In both gambling tasks, AIC inactivation decreased risk preference whereas OFC inactivation increased it. In risk-free control situations, AIC and OFC inactivations did not affect decision making. These results suggest that the AIC is causally involved in risky decision making and promotes risk taking. The AIC and OFC may be crucial for the opposing motives of whether to take a risk or avoid it.

Introduction

The choice of taking a risk for a higher gain or playing it safe and thereby avoiding a loss is an important one. Risk taking can lead to ruin but may also prove advantageous by facilitating exploration. The point is their balance. Many behavioral studies have investigated decision making under risk in humans (Tversky and Kahneman, 1981) and animals (for review, see Kacelnik and Bateson, 1996; Weber et al., 2004) and have shown that decisions made by a wide variety of species are sensitive to the balance of risky and sure outcomes.

Recent studies have elucidated the neural basis underlying decision making under risk (for review, see Doya, 2008; Rushworth et al., 2011; Schultz, 2011). A key region is the anterior insular cortex (AIC). In human neuroimaging studies, the AIC was activated during decision making under risk in various gambling tasks (Paulus et al., 2003; Kuhnen and Knutson, 2005; Preusschoff et al., 2008; Xue et al., 2010). For example, insular activation was stronger when participants chose risky alternatives versus sure alternatives (Paulus et al., 2003). AIC activity was correlated with risk prediction and risk prediction error (Preusschoff et al., 2008), and reflected higher forms of risk (Burke and Tobler, 2011). However, whether AIC causally contributes to decision making under risk is largely unknown.

The primary purpose of this study was to test for a causal involvement of the AIC in decision making under risk by using reversible pharmacological lesions. We investigated the effect of temporarily inactivating rat AIC on risk preference in two different gambling tasks, one with risky reward amounts, the other with risky reward delays. We aimed to establish the generality of the inactivation effects on risk preference beyond a single task. We also used a control task to dissociate the main findings from effects on other properties of reward, such as reward delay and magnitude.

We contrasted AIC inactivations with inactivations of the orbitofrontal cortex (OFC) within the same subjects. Patients with damage to the ventromedial prefrontal area including the OFC make abnormal risky decisions in the Iowa Gambling task (Bechara et al., 1994). In human neuroimaging, the OFC activates in various gambling tasks (Rogers et al., 1999b; Ernst et al., 2002; Fukui et al., 2005; Tobler et al., 2007; Li et al., 2010). In rats, OFC-lesions increased preference for risk (Pais-Vieira et al., 2007). Based on these studies, the OFC has been thought to play a crucial role for optimal decision making under risk. Our second purpose was to test the generality of this role in two distinct risk tasks, one in which risk arises in reward amount and one in which it arises in reward delay. Third, we aimed to clarify the functional differences between adjacent AIC and OFC in risky decision making by using the same experimental procedure and subjects. Such a within-subject design with reversible inactivations and washout periods allowed us to tightly control for individual behavioral differences and minimize compensatory effects resulting from lesions.

Materials and Methods

Animals. Twenty-four male Wistar rats weighing 200–320 g were used for the experiments. Rats were individually housed under 12 h light/dark cycles with light onset at 8:00 P.M. Training and testing took place during the dark phase. Rats were given *ad libitum* access to food for the duration

Received May 11, 2012; revised Sept. 10, 2012; accepted Sept. 14, 2012.

Author contributions: H.I., S.O., P.N.T., K.-I.T., and T.I. designed research; H.I. performed research; H.I. analyzed data; H.I., S.O., P.N.T., K.-I.T., and T.I. wrote the paper.

This work was supported by a Global Common Operating Environment Program of the Japanese Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology in the form of the "Basic and Translational Research Center for Global Brain Science," at Tohoku University.

The authors declare no financial conflicts of interest.

Correspondence should be addressed to Dr. Toshio Iijima, Division of Systems Neuroscience, Tohoku University Graduate School of Life Sciences, 2-1-1 Katahira, Aoba-ku, Sendai 980-8577, Japan. E-mail: t-ijima@mtohoku.ac.jp.

DOI:10.1523/JNEUROSCI.2278-12.2012

Copyright © 2012 the authors 0270-6474/12/3216031-09\$15.00/0

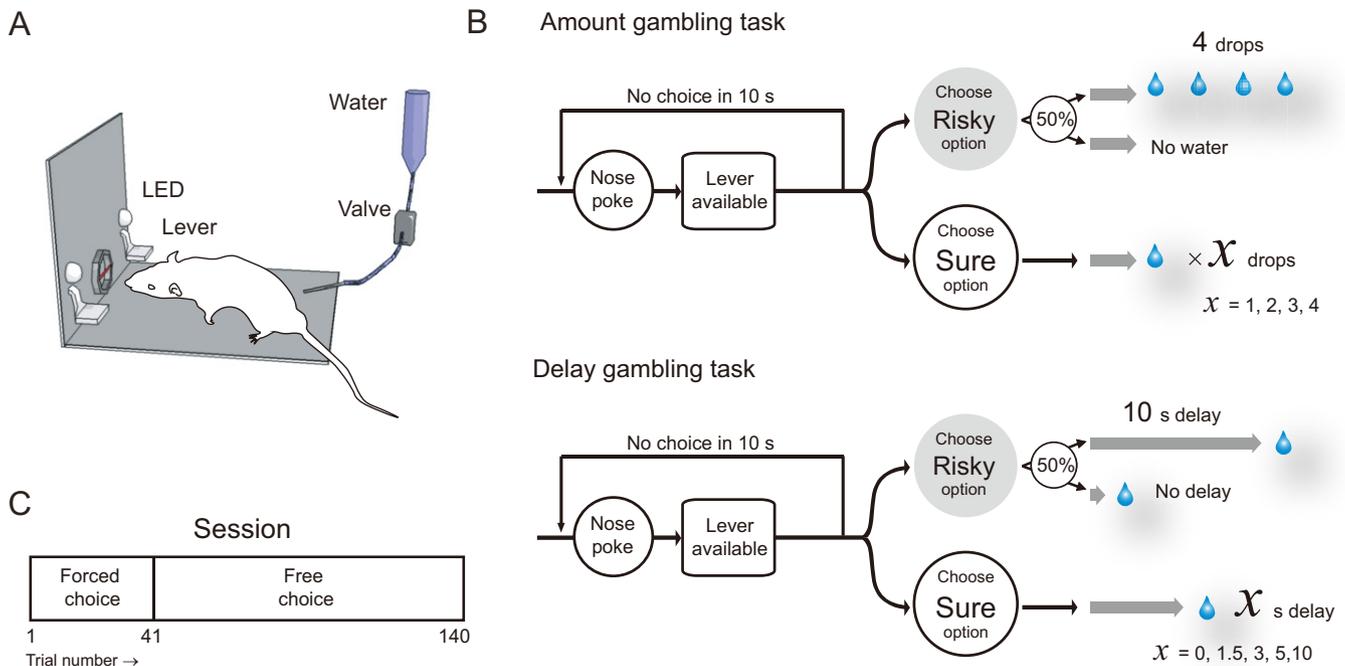


Figure 1. Task design. **A**, Experimental apparatus. **B**, Sequence of events in a trial of the amount gambling task (top) and delay gambling task (bottom). The rats were required to nose-poke to initiate a trial, and then to press a lever. Water was given as reward. Both tasks required the rats to choose between a risky option and a sure option. **C**, Session structure. In the first 40 forced trials, the rats learned the relationship between the lever positions and the outcomes. In the following 100 free choice trials, the rats were free to choose between the two options.

of the experiments but limited access to drinking water because water was used as reward for the experiment. To prevent weight loss, rats were given additional water after the daily experiment finished. Their body weights were monitored daily. Throughout the experiments, animals were treated in accordance with the National Institutes of Health *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* and Tohoku University *Guidelines for Animal Care and Use*.

Overall structure of the experiment. We investigated the effects of AIC and OFC inactivation on rats' decision making in two types of gambling tasks (the amount and delay gambling task) and intertemporal choice task (as a control). The basic task for the rat was to get water by choosing one of two levers that were associated with different outcomes. The rats learned the basic rules of the tasks in training 1, and were trained to discriminate the difference in reward amount or delay in training 2 (for details, see below). Then, we investigated behavioral performances without drug injections in both gambling tasks and in the intertemporal choice task. Finally, we implanted guide cannulae for drug injections and, after a recovery period, conducted pharmacological tests in those same tasks.

Apparatus. Experiments were conducted in dimly lit sound-attenuated boxes ($60 \times 45 \times 35$ cm). On one wall of the box, a nose-poke hole was located in the center and two levers on each side of the hole. Nose-poke responses were detected by a horizontal infrared beam (OMRON). White LEDs were positioned above each lever. A nozzle delivering water was on the opposite wall. Auditory stimuli were generated by a speaker located in the ceiling. Each device was connected to a computer via a Digital I/O card (PCI-7248; ADLINK Technology) and controlled by an in-house software program (based on C++). The boxes were equipped with a fan for ventilation and masking noise. For details of apparatus settings, see Figure 1A.

Training 1: Nose-poke and lever press. Training 1 consisted of three steps. First, rats were trained to press either lever to get water. An auditory stimulus (2 kHz, 1 s) was presented upon lever press and water delivery followed. Second, rats were trained to press the lever when a visual stimulus was presented. The visual stimulus also indicated which lever the rats should press. If the left visual stimulus was presented, the rats were required to press the left lever (correct case). They could not get

water if they pressed the right lever (wrong case) and were required to press the left lever again in the next trial. When rats pressed the wrong lever, the auditory stimulus was not presented. Once a lever was pressed, visual stimuli disappeared and levers were unavailable until the next trial. Finally, rats were trained to nose-poke into the central hole to start a trial. They subsequently pressed one of the available levers and got water from the nozzle at the opposite wall of the box. If rats did not press any lever within 10 s after nose-poke, the trial was cancelled and visual stimuli disappeared until the next trial.

Training 2: Amount and delay discrimination task. Before they were tested in the amount, delay, or intertemporal choice tasks, rats were trained to discriminate differences in either amount or time. The amount discrimination task consisted of a choice between four and two drops of water, the delay discrimination task consisted of a choice between no delay and 1.5 s delay. In both discrimination tasks, a session consisted of 40 forced choices for learning the relationship between levers and outcomes and 100 free choices for measuring rats' ability to discriminate. In the first 40 forced-choice trials, available levers were limited to one on each trial. Rats experienced the two options equally often. In the following 100 free-choice trials, both levers were available, and rats could choose between the two options. Assignment of outcomes to levers was counterbalanced between sessions. Sessions were conducted up to three times a day and lasted >3 h. A rat was moved to the next step (gambling task) when it had performed 10 or more consecutive sessions in which they chose the better option $>65\%$ of the time. In both discrimination tasks, rats chose the better option in $>85\%$ of the time in most sessions.

Trial structure. In both discrimination tasks, a 1 s period was provided after the lever press as moving time; that is, water was delivered at least 1 s after the lever press. The duration of delay was implemented after this 1 s moving time. The auditory stimulus was presented during lever press when water was given. In the amount discrimination task, one drop of water was $50 \mu\text{l}$, and the interval between each drop was 700 ms. Duration of the delay was 3 s. In the delay discrimination task, rats were given $100 \mu\text{l}$ of water per trial.

Depending on the experimental task in which they later were used, rats were tested in the amount, delay, or both discrimination tasks. Thus, the nine (10, 5) rats that were used in the amount gambling (delay gambling,

intertemporal choice) task had been tested for their amount (delay, amount and delay) discrimination ability in the amount (delay, both) discrimination task.

Amount and delay gambling tasks. Risk can arise from variability in reward amount or delay (Logan, 1965; Kacelnik and Bateson, 1996). In the present study, we investigated the effects of AIC or OFC inactivation on risky decision making associated with reward amount and delay using two gambling tasks (the amount gambling task and the delay gambling task), which were modified from previously described procedures (Logan, 1965). In both tasks, water-deprived rats were required to choose and press one of two levers for water as reward (Fig. 1A,B). In the amount gambling task, rats were required to choose between a risky option (variable amount: 4 drops or no water, 50/50 chance) and a sure option (fixed amount: x drops of water; $x = 1, 2, 3, 4$; x was fixed in a session). In the delay gambling task, rats were required to choose between a risky option (variable delay until reward delivery: 0 or 10 s, 50/50 chance) and a sure option (fixed delay: $x = 0, 1.5, 3, 5, 10$ s, x was fixed in a session; Fig. 1B). The overall task designs and procedures in the two gambling tasks were the same as in the amount and delay discrimination tasks.

Before we conducted pharmacological experiments, we investigated behavioral performance without drug injections at each x in both gambling tasks. More than 12 sessions were conducted at each level of x . Percent choice of the risky option in each individual was the average of 10 sessions selected from the last consecutive 12 sessions, eliminating the two sessions with maximum and minimum percent choice of the risky option. Subjective equivalence points between risky and sure options (percent choice of the risky option = 50%) were calculated based on logistic sigmoid functions that were fitted to the observed value using the least-square method.

Intertemporal choice task. If inactivation of either the AIC or OFC disrupted the recognition of the difference in reward amount or delay, or affected value processing under sure conditions, percent choice of the risky option could have been affected in the amount and delay gambling tasks. To test this possibility, we investigated the effect of AIC or OFC inactivation in an intertemporal choice task. In this task, rats were required to choose between a larger later option and a smaller sooner option. This task has been used previously in delay discounting studies (Cardinal et al., 2001; Kalenscher and Pennartz, 2008), and our experimental design was modified from the one described by Evenden and Ryan (1996). If AIC or OFC inactivation affects either discrimination or evaluation of reward amount or delay, percent choice of the two options would change in this task. The larger later option provided four drops of water after a delay of x seconds ($x = 0, 3, 5, 7, 10$; x was fixed in a session). The smaller sooner option provided two drops of water immediately. The overall task design and experimental procedures were the same as in the amount and delay gambling tasks. We calculated the subjective equivalence point between larger later and smaller sooner options by using the same methods as in the two gambling tasks.

Surgery. After the rats were tested for their behavioral performances in the amount gambling task, delay gambling task, or intertemporal choice task, they were surgically implanted with stainless steel guide cannulae (0.6 mm diameter) targeting 1 mm above bilateral AIC (AP +3.0, ML \pm 4.2, DV -5.6 mm) and OFC (AP +4.4, ML \pm 2.2, DV -5.0 mm). Under ketamine (80.0 mg/kg) and xylazine (0.8 mg/kg) anesthesia, the scalp was retracted, and craniotomies were made bilaterally above the target sites of the cannulae. Four guide cannulae (0.6 mm diameter) were inserted and fixed with dental cement. To prevent clogging by blood clots, dummy injection cannulae (0.3 mm diameter) were inserted into the guide cannulae. Rats were given 1 week of recovery after the surgery. After the recovery period, they were retrained in either the amount or delay discrimination task in a week. In the retraining period, rats were handled 30 min before each session to get them acclimatized to the procedure of drug injection.

Drugs. Either the AIC or OFC was inactivated by injecting a mixture of muscimol (GABA A receptor agonist) and baclofen (GABA B receptor agonist) (Sigma), which have been used in previous inactivation studies (Ghods-Sharifi et al., 2009; Takahashi et al., 2009). Muscimol and baclofen were dissolved separately in physiological saline at a concentra-

tion of 200 ng/ μ l, and combined in equal volumes. The final concentration of each drug was 100 ng/ μ l. The concentration of drugs was determined by referring to previous studies (Ghods-Sharifi et al., 2009; Horst and Laubach, 2009; Takahashi et al., 2009) and our preliminary experiment. The volume of drugs was 100 nl per hemisphere. We used lower drug volumes than in the previous studies to prevent diffusion between AIC and OFC, which adjoin each other. To test the extent of drug diffusion, we conducted additional tests in which two types of dye were injected into the AIC and OFC, using the same injection procedures as the main experiment. As smaller molecules are generally more likely to diffuse (Hayduk and Laudie, 1974), we used thionine and pontamine sky blue, whose molecular weight was relatively close to and larger than that of the drugs, respectively (muscimol: 114.1, baclofen: 213.66, thionine: 263.75, pontamine sky blue: 992.8). Despite the difference in molecular weight, the extents of diffusion of the two dyes were both 1.5 mm in width. Edeline et al. (2002) report a similar extent of diffusion after the same amount of muscimol injection into the cortex. Importantly, there was no overlap between injection sites.

Injection procedure. Drug or saline was injected 30 min before the behavioral tests. During the drug injection, rats were handled on the experimenter's lap without anesthesia. The dummy cannula was removed from the implanted guide cannula, and the injection cannula was inserted into the target region via the guide cannula. The injection cannulae were stainless steel needles 0.3 mm in diameter and extending 1 mm from the tip of the guide cannulae. Injection cannulae were connected to a microliter Hamilton syringe by 0.26-mm-diameter polyethylene tubing. The drug or saline was delivered at a rate of 50 nl/min for 2 min (100 nl per hemisphere) under syringe infusion pump control. Injection cannulae were left in place for 1 min after injection to allow diffusion of the fluid. Injections to each hemisphere were performed separately; the entire injection procedure took 7–10 min. Finally, we checked for clogging of the injection cannula after the injection. Data were excluded from the analysis if the injection cannula were clogged. To habituate the rats to the injection procedure, they underwent a mock injection during preinjection sessions (the last 5 sessions before injection conditions).

Pharmacological test schedule. Each rat underwent four injection conditions (AIC/drugs, AIC/saline, OFC/drugs, and OFC/saline in a randomized order). All injections were spaced at least 2 d apart. We treated the last five preinjection sessions as a baseline. The averages of the standard deviations of the risky choices in the last five preinjection sessions were 11.1% in the amount gambling task, 10.1% in the delay gambling task, and 10.4% in the intertemporal choice task.

Histology. After experiments were completed, the brains were sliced into 50 μ m coronal sections and stained with thionine. Slices were examined under a microscope to identify locations of cannulae. Cannulae placements were classified using the rat brain atlas (Paxinos and Watson, 2007).

Data analysis. Statistical analysis was conducted using SPSS and Microsoft Excel. In both the amount and the delay gambling task, four behavioral parameters were measured for each animal: percent choice of the risky option in 100 free choices, correct rate in 40 forced choices, average reaction time in 100 free choices, and number of reaction omissions in the whole session.

The population's percent choice of the risky option was the average percent choice of the risky option of all individuals. Comparisons between percent choice of the risky option and chance level (50%, random choice between the two options) were made by one-sample t test (significance level: $p < 0.05$). To calculate the subjective equivalence point between the risky and sure options (percent choice of the risky option = 50%), a logistic sigmoid function ($f(x) = a + b/(1 + \exp(-(x - c)/d))$; a , b , c , and d were free parameters) was fitted to the observed choice frequencies using the least-squares method.

For the analysis of the injection conditions, first we compared the percent choices of the risky option between the pharmacological treatment session (postinjection) with the average of the last five sessions before injection (preinjection), and one session conducted on the day after postinjection (recovery). Comparisons of percent choice of the risky option between preinjection, postinjection, and recovery were made using a

one-way ANOVA. If the outcome of this ANOVA yielded significant effects at the $p < 0.05$ level, a *post hoc t* test with Bonferroni correction was performed (significance level: $p < 0.05$, Bonferroni-corrected). The changes in the percent of risky option choice from preinjection to postinjection (the percent of risky option in postinjection minus that of preinjection) were compared between the drug and saline injection conditions on an individual animal basis by paired *t* test (significance level: $p = 0.05$).

Comparisons of the correct rate between drugs and saline injection were made by nonparametric Wilcoxon signed ranks test (significant level: $p < 0.05$). A nonparametric test was used because the correct rate was extremely high and not normally distributed. Comparisons of reaction time and reaction omission between the drugs and saline injection were made by paired *t* tests (significant level: $p < 0.05$).

In the intertemporal choice task, data collection and analysis was performed as in the two gambling tasks. Comparisons of percent choice of the larger later option between preinjection, postinjection, and recovery sessions were made using one-way ANOVA.

Data were excluded from the analysis when the injection cannulae were found to be clogged or when the tip of the injection cannulae deviated from the target region with histological investigation (Fig. 3B, x symbol). The final numbers for each injection condition were nine for every experiment in the amount gambling task and nine (AIC/drugs), six (AIC/saline), seven (OFC/drugs), and six (OFC/saline) in the delay gambling task. Note that the results remained significant when all data were included.

Results

Behavior in two gambling tasks

Figure 2, A and B, show behavioral performance in the amount ($N = 9$) and delay ($N = 10$) gambling tasks, respectively. We focus on two aspects of these results here. One aspect is whether the rats understood the difference between risky and sure options. In both tasks, percent choice of the risky option changed gradually (not abruptly) depending on the value of the sure option. This result suggests that the rats were attracted not only to either outcome of the risky and sure options, but compared the three outcomes provided by the two options (i.e., they were sensitive to changes in the sure amount).

Next, we asked which option the rats preferred when the risky and sure option had the same expected value in the two gambling tasks. Risky and sure options had the same expected value at $x = 2$ in the amount gambling task and at $x = 5$ in the delay gambling task. Because each option, on average, provides the same reward amount or delay at these conditions, rats with no preference for either option would choose the risky option in $\sim 50\%$ of the trials. In the amount gambling task, six of nine rats exhibited a significant preference for the risky option at $x = 2$ (risk-seeking type), and the other three rats had no significant preference (risk-indifferent type). In the population, the percent choice of the risky option was significantly higher than chance level ($60.5 \pm 3.1\%$, $t_{(9)} = 7.67$, $p < 0.05$). In the delay gambling task, all 10 rats exhibited a preference for the risky option at $x = 5$ ($84.1 \pm 2.1\%$, $t_{(10)} = 16.14$, $p < 0.05$). These behavioral tendencies in both tasks are consistent with previous reports that in general, animals exhibit various preferences for risk in reward amount and prefer risk in reward delay when risky and sure options have the same expected value (Kacelnik and Bateson, 1996; Weber et al., 2004).

To allow risk preference to change by inactivations, we investigated the x value at which risky and sure options were equivalent for the rats (percent choice of the risky option = 50%, subjective equivalence point) by drawing sigmoid curves based on logistic functions that were fitted to the observed value ($r^2 > 0.99$ in both tasks). The subjective equivalence point between the risky and sure option was 2.4 in the amount gambling task and 2.3 in the delay gambling task. In the following experiments, the

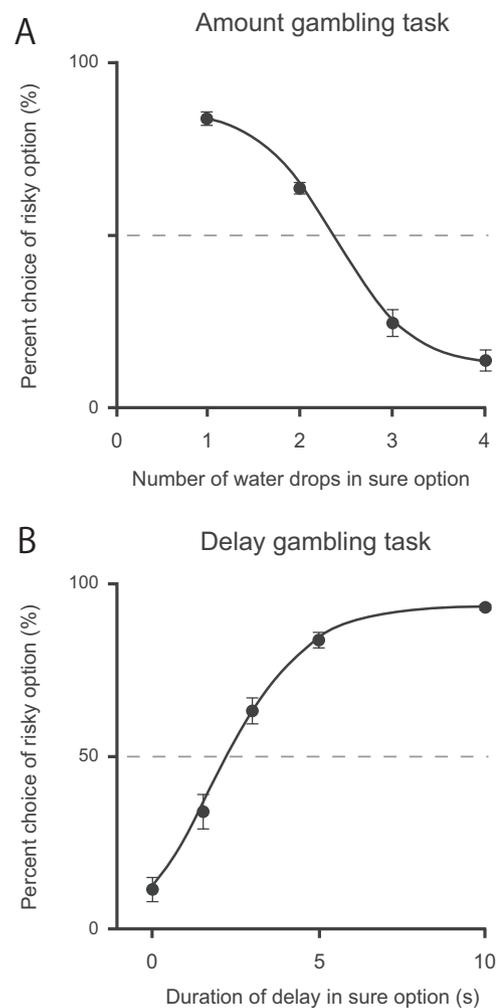


Figure 2. Percent choice of the risky option in the amount (A, $N = 9$) and delay (B, $N = 10$) gambling tasks. Sigmoid curves were drawn based on logistic functions that were fitted to observed values ($r^2 > 0.99$ in both tasks). When the risky and sure options had the same expected values ($x = 2$ in the amount gambling task, $x = 5$ in the delay gambling task), rats significantly preferred the risky option ($p < 0.05$, both tasks). Calculated from sigmoid logistic functions, the subjective equivalence points between risky and sure options were 2.4 in the amount gambling task and 2.3 in the delay gambling task. Error bars indicate SEM.

rats were tested for risk preference at $x = 2$ in the amount gambling task because this was the nearest integer number to the subjective equivalence point, and at their respective subjective equivalence point in the delay gambling task because delays could be adjusted precisely to individual subjective equivalence points.

Inactivation of AIC and OFC in gambling tasks

The rats were implanted with cannulae for local microinjection of drugs. Figure 3 shows guide and injection cannulae tracks and injection sites. In Figure 4, A and B, the effects of inactivation of the AIC and OFC on risk preference are shown as group data. Changes in percent choice of the risky option between preinjection, postinjection, and recovery were detected with a one-way ANOVA and further specified by *post hoc t* tests with Bonferroni correction. Saline injection into either the AIC or OFC did not affect risk preference in either gambling task (amount gambling task: AIC, $p = 0.69$; OFC, $p = 0.66$; delay gambling task: AIC, $p = 0.66$; OFC, $p = 0.86$; one-way ANOVA). In contrast, inactivation by muscimol and baclofen injection changed risk preferences. The direction of change was similar for both tasks but different

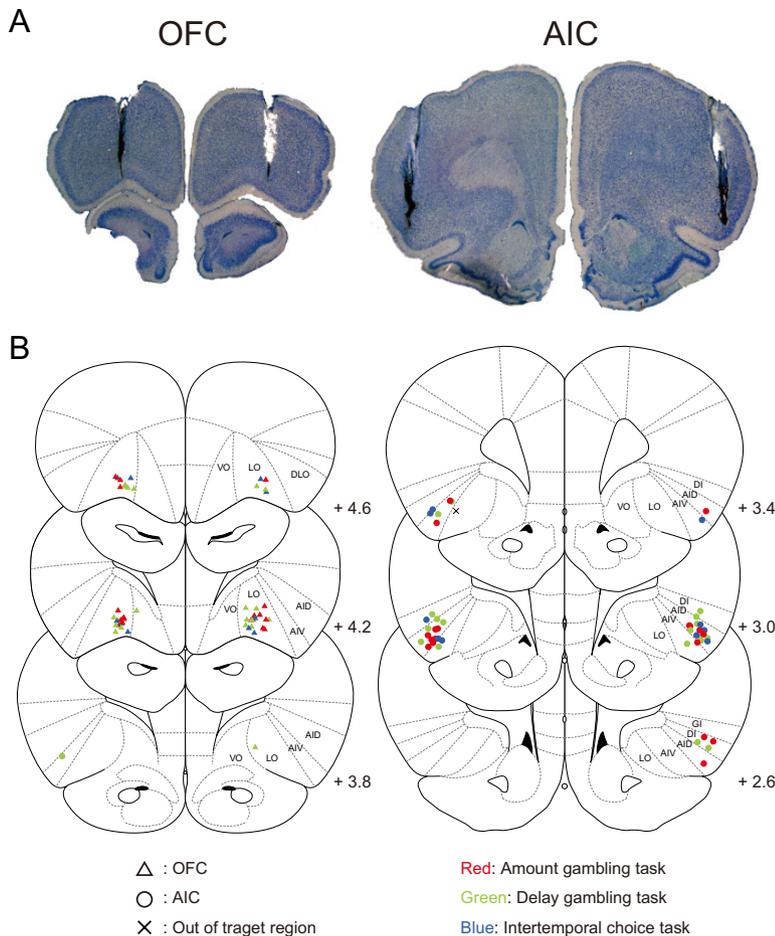


Figure 3. Locations of injection. Rats were bilaterally implanted with 0.6-mm-diameter guide cannulae through which 0.3-mm-diameter injection cannulae were inserted. **A**, Typical tracks of guide and injection cannulae. **B**, Locations of tip of injection cannulae in the AIC and OFC. Plates are adaptations from the atlas of the rat brain (Paxinos and Watson, 2007). AID, Dorsal agranular insular cortex; AIV, ventral agranular insular cortex; DI, dysgranular insular cortex; DLO, dorsolateral orbitofrontal cortex; GI, granular insular cortex; LO, lateral orbitofrontal cortex; VO, ventral orbitofrontal cortex.

depending on injection site. Inactivation of the AIC decreased risk preference whereas inactivation of the OFC increased it (one-way ANOVA, all $p < 0.05$; *post hoc t* test with preinjection vs postinjection at each drug injection condition, Bonferroni-corrected, all $p < 0.05$). There were no differences in inactivation effects on risk preference between risk-seeking and risk-indifferent rats in the amount gambling task.

We also analyzed the changes in risk preference on the single-subject level. Figure 4C shows the individual changes in percent choice of the risky option from preinjection to postinjection (i.e., percent choice of the risky option postinjection minus that of preinjection). Risk preference changes induced by drug injection differed significantly from saline injection (all $p < 0.05$, paired *t* test with drugs vs saline). Thus, AIC or OFC inactivation also had distinct effects on risk taking at the single-subject level, regardless of whether risk was in amount or delay.

To test whether the risk preferences developed over the 100 free-choice trials, we compared the percent choices of the risky option for each injection condition by dividing the free-choice trials into four blocks. There were no significant differences in risky choices between blocks [all $p > 0.1$, repeated-measures two-way ANOVA (drugs/saline \times blocks)], and interactions between drugs/saline and blocks were not significant either (however, the p value of the interaction between drugs/saline and blocks in OFC

injections in the amount gambling task was 0.06). Thus, there was no significant development of the risk preference during a session.

Control analysis: less specific effects of AIC or OFC inactivation?

Prefrontal cortex is thought to be involved in cognition, motor performance, and attention (Fuster, 2008). We therefore investigated whether AIC and OFC inactivation affected performance in domains other than risk taking. More specifically, we compared three behavioral parameters after muscimol and baclofen injection versus saline injection: correct rate in forced choices (cognition), reaction time (duration from nose-poke to lever press) in free choices (motor performance), and number of reaction omissions (no lever press in 10 s after nose-poke) in the whole session (attention) (Table 1).

Forced choice required pressing a specified lever to get a reward, but rats could also press a nonspecified lever (for no reward). The correct rate in forced choices could have been affected by various cognitive dysfunctions, but AIC and OFC inactivation had no significant effect in either the amount gambling task (AIC: $z = -1.41$, $p = 0.16$, OFC: $z = -1.0$, $p = 0.32$, Wilcoxon signed ranks test) or the delay gambling task (AIC: $z = 0$, $p = 1.0$, OFC: $z = 0$, $p = 1.0$, Wilcoxon signed ranks test).

Although there was a possibility that muscimol and baclofen injection might affect motor performance by leaking to the secondary motor area through the guide cannulae, there were no significant

differences in reaction time between saline and drug injection into either the AIC or OFC in the amount gambling task (AIC: $p = 0.07$, OFC: $p = 0.59$, paired *t* test) or the delay gambling task (AIC: $p = 0.15$, OFC: $p = 0.75$, paired *t* test).

Reaction omission could result from a deficit in attention. However, reaction omissions rarely happened in any of the 140 trials even with drug injections. There were no significant differences in the number of reaction omissions between saline and drug injection into either the AIC or OFC in either the amount gambling task (AIC: $p = 0.07$, OFC: $p = 0.14$, paired *t* test) or the delay gambling task (AIC: $p = 0.22$, OFC: $p = 0.20$, paired *t* test).

Control experiment: intertemporal choice task

To test whether inactivation of the AIC and OFC affected the recognition of the difference in reward amount or delay, or value processing under sure conditions, we investigated the effect of AIC and OFC inactivation in the intertemporal choice task. Figure 5A shows the behavioral performance in the intertemporal choice task ($N = 5$). In the same way as for the two gambling tasks, we calculated the subjective equivalence point between larger later and smaller sooner options for each individual ($x = 5-7$), and conducted pharmacological experiments at these points. Figure 5B shows that there were no significant effects on intertemporal choice by AIC and OFC inactivation ($p = 0.56$ and

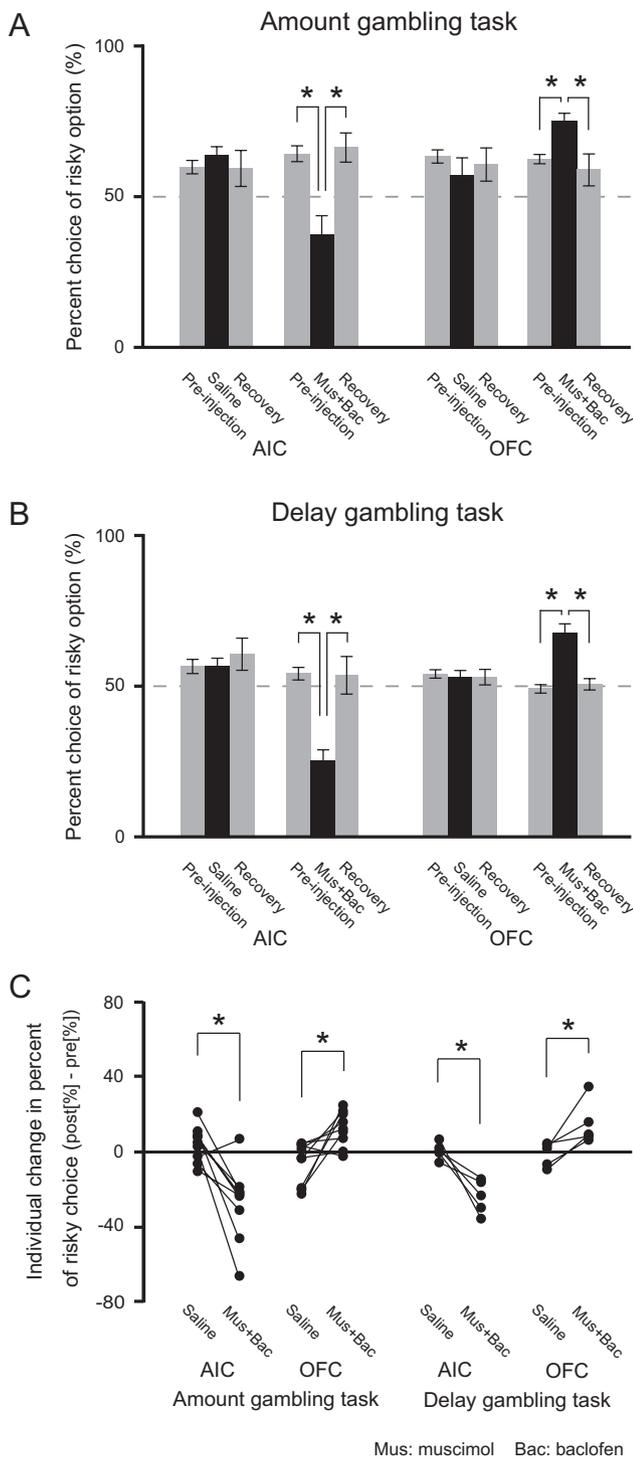


Figure 4. Effects of AIC and OFC inactivation on risk preference in the two gambling tasks. In both the amount (A) and delay (B) gambling task, AIC inactivation significantly decreased risk preference. In contrast, OFC inactivation significantly increased risk preference. Comparisons were made by ANOVA and *post hoc t* test. *Significant difference between all combinations by *post hoc t* test ($p < 0.05$, Bonferroni-corrected). C, individual changes in risky choices. Drugs and saline injection data belonging to the same individual are connected with a straight line. Risk preferences after drug injection significantly differed from those after saline injection (*all $p < 0.05$, paired *t* test). Error bars indicate SEM.

$p = 0.81$, respectively, ANOVA) and by saline injection ($p = 0.56$ and $p = 0.51$, respectively, ANOVA).

It is possible that inactivations affected the value processing of amount and delay in opposite ways such that they canceled out. If

so, AIC and OFC inactivations would affect the discrimination performances in the amount and delay discrimination tasks. However, our initial preliminary experiments confirmed that AIC and OFC inactivations have no effect on discrimination performance in each discrimination task, so this possibility seems unlikely.

Discussion

Previous studies have found various neural correlates of decision making under risk, such as the amygdala, nucleus accumbens, cingulate cortex, dorsolateral prefrontal cortex, ventromedial prefrontal cortex, orbitofrontal cortex, and insular cortex (McCoy and Platt, 2005; Tom et al., 2007; Venkatraman et al., 2009; Mohr et al., 2010). In the present study, we focused on the causal roles of two limbic regions, AIC and OFC. In two different types of gambling tasks, we found that inactivation of the AIC decreased risk preference whereas inactivation of the OFC increased risk preference. Because the effects of these inactivations were similar for both tasks, inactivations appear to have affected risk processing generally and directly rather than affecting more specific reward-amount and delay-value processing or having indirect effects. This interpretation is supported by the result of the control experiment suggesting that AIC and OFC inactivations had no significant effects on intertemporal choice. The AIC and OFC seem to be important for decision making under risky conditions and not always necessary for value-based decision making under sure conditions. In addition, AIC and OFC inactivations had no significant effects on less specific factors of task performance, such as correct rate, reaction time, or reaction omission. Based on these results, we propose that inactivation of either AIC or OFC primarily changed risk preference. Most importantly, the change occurred in opposing directions for the two regions.

Intact AIC promotes risk taking

Previous human imaging studies have reported AIC activation in risky decision making (Paulus et al., 2003; Kuhnen and Knutson, 2005; Preuschoff et al., 2008; Xue et al., 2010; Burke and Tobler, 2011). Here, we demonstrated a causal involvement of the AIC in risky decision making, and, by extension, suggest that the intact AIC normally promotes risk taking. This idea concurs with previous findings that insular activation was stronger when participants took risky versus sure decisions (Paulus et al., 2003) and that high insula activation was more likely to occur when participants took a risky decision after taking a no-risk decision in the previous trial (Xue et al., 2010).

The findings of AIC involvement in drug addiction are consistent with our results of AIC inactivation. Damage to the insula disrupted addiction to cigarette smoking (Naqvi et al., 2007). Insula inactivation prevented amphetamine-seeking in a place-preference task (Contreras et al., 2007). From these observations, the AIC is thought to induce an urge for the pleasurable interoceptive effects of drug taking (Naqvi et al., 2007). However, drugs are risky substances, often leading not only to pleasurable but adverse effects. Together with our findings, the AIC may promote risk seeking in situations in which both positive and negative outcomes can ensue. More generally, the AIC has been implicated as a key structure in linking multi-sensory information, affective processing, and previous experiences through connections with the posterior insular cortex, the amygdala, and the hippocampal system (Shi and Cassell, 1998; Delatour and Witter, 2002; Reynolds and Zahm, 2005; Craig, 2009). Given these interactions, the AIC may process risk information by using interoceptive and emotional information, and may promote seeking the better outcome of a risky decision.

Table 1. No effect on other behaviors by either AIC or OFC inactivation

	AIC			OFC		
	Saline	Mus + Bac		Saline	Mus + Bac	
Amount gambling task						
Correct rate in 40 forced choices (%)	100 ± 0	99.8 ± 0.1	ns	100 ± 0	99.9 ± 0.1	ns
Reaction time in 100 free choices (ms)	1260 ± 274	1560 ± 125	ns	1116 ± 156	1174 ± 91	ns
Number of reaction omission in whole session	0.56 ± 0.18	1.56 ± 0.50	ns	0.44 ± 0.18	1.00 ± 0.29	ns
Delay gambling task						
Correct rate in 40 forced choices (%)	100 ± 0	100 ± 0	ns	100 ± 0	100 ± 0	ns
Reaction time in 100 free choices (ms)	1027 ± 63	1356 ± 190	ns	1019 ± 48	1001 ± 86	ns
Number of reaction omission in whole session	0.33 ± 0.21	1.42 ± 0.48	ns	1.17 ± 0.48	0.67 ± 0.33	ns

The effects of AIC or OFC inactivation on three behavioral parameters: correct rate in 40 forced choices, reaction time in 100 free choices, and number of reaction omissions in the whole session. There were no significant differences between inactivations and saline in both gambling tasks, suggesting that inactivations affected performance in risk taking and not other domains. Values are mean ± SEM. Mus + Bac, muscimol + baclofen; ns, not significant.

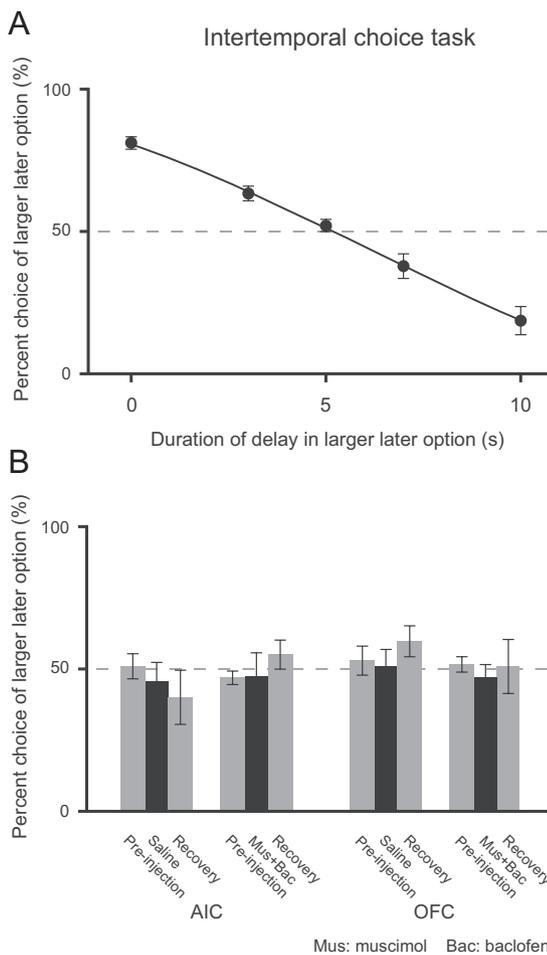


Figure 5. Intertemporal choice task ($N = 5$). **A**, Performance at each x condition and fitted sigmoid curves based on logistic function ($r^2 > 0.99$). **B**, Effects of AIC or OFC inactivation on intertemporal choice at subjective equivalence point with larger later and smaller sooner options ($x = 5$). Neither AIC or OFC inactivation had significant effects in this task ($p = 0.56, p = 0.81$, ANOVA). Saline injection also had no significant effect ($p = 0.56, p = 0.51$, ANOVA). Error bars indicate SEM.

The AIC may also suppress avoiding the worse outcome of a risky decision. In our study, risk preference after losing the gamble in the previous trial decreased by AIC inactivation in both gambling tasks (both $p < 0.05$, paired t test with preinjection vs postinjection): with AIC inactivation, the rats were more risk-averse, particularly after losing than with saline. This result indicates that the AIC is also involved in adjusting current behavior in the light of adverse outcomes in risky decisions. Our proposal that the AIC promotes risk taking appears to be at odds with a

previous idea that the AIC is involved in loss aversion in risky decision making: high AIC activation preceded switching to risk-averse choices in a financial decision making task (Kuhnen and Knutson, 2005). This contradiction may be resolved if the AIC is sensitive to the potentially worse outcome of the risky option and is recruited to suppress risk avoiding.

The AIC may promote risk seeking in synergy with other brain regions. One of these regions is the amygdala. Both the basolateral and the central nucleus receive strong excitatory inputs from the insular cortex (McDonald, 1998). Moreover, temporary inactivation of the basolateral amygdala made animals more risk-averse (Ghods-Sharifi et al., 2009). Thus, it is conceivable that the intact AIC contributes to and combines with amygdala-mediated risk seeking.

Opposite roles of AIC and OFC in risky decision making

In this study, we also confirmed that the OFC plays a crucial role in decision making under risk in the two gambling tasks. Consistent with previous reports on patients with OFC damage (Bechara et al., 1994; Rogers et al., 1999a) and OFC-lesioned rodents (Pais-Vieira et al., 2007), inactivation of the OFC increased risk preference in the present study. The common effects in both amount and delay gambling tasks extend the previous literature by showing a general role of the OFC in risk processing.

At first, our finding that OFC inactivation had no effect on intertemporal choice may appear inconsistent with findings of previous studies that rat OFC lesions result in more impulsive choices (Mobini et al., 2002), less impulsive choices (Winstanley et al., 2004), or both (Mar et al., 2011). One reason could be that the time delay setting used for the larger later option in our study (10 s) was much shorter than the ones used in these previous studies (30–60 s), making the task less sensitive to impulsivity caused by OFC inactivation. Thus, the effect of OFC inactivation on impulsivity might have gone undetected in our study. In other words, our study distinguished the effects of OFC inactivation on risk preference from those on time discounting.

In agreement with the suggested role of the intact OFC in promoting risk aversion, previous studies revealed an involvement of the OFC in risk processing. Single neurons of the primate OFC responded to stimuli predicting risk and these responses increased monotonically with risk (O'Neill and Schultz, 2010). The responses of rat OFC neurons to the outcomes of risky options in free choice reflected individual risk preference (Roitman and Roitman, 2010). The OFC may contribute to loss processing because human lateral OFC was activated by monetary loss (O'Doherty et al., 2001) and activation of lateral OFC covaried with risk and individual risk aversion (Tobler et al., 2007). From these observations, it is reasonable to assume that the loss of OFC

function interferes with optimal decision making under risk and causes abnormal risk seeking behavior.

Our results provide new insights into not only the role of the AIC but also functional specialization between the two adjacent cortical areas in risky decision making. Anatomically, the AIC and OFC have distinct topographical connectivity with the striatum and the frontal cortex. Concerning striatal connectivity, the AIC mainly projects to ventral and lateral parts of the striatum, whereas the OFC projects more dorsally and medially (Schilman et al., 2008). Concerning frontal connectivity, the AIC has major interconnections with the anterior cingulate, prelimbic, and infralimbic cortex, whereas the OFC is mainly interconnected with the anterior cingulate cortex and has much less interconnection with prelimbic and infralimbic cortex (Hoover and Vertes, 2011). The important point of our results is that AIC and OFC inactivations had opposite effects on risk preference, and this suggests, to our knowledge for the first time, that the AIC and OFC make different contributions to risky decisions. It could be that the AIC promotes exploration for possible gain, whereas the OFC promotes avoidance of possible loss. Moreover, there is a possibility that in the decision phase the AIC and OFC may functionally compete with each other directly or indirectly. Mutually inhibitory interaction between the AIC and OFC could be achieved by anatomical interconnection between them (Van De Werd and Uylings, 2008). Indirect competition could be achieved by opposite influences on other regions that receive projections from both AIC and OFC. One such candidate is the nucleus accumbens (Reynolds and Zahm, 2005), which is also known to be involved in decision making under risk (Kuhnen and Knutson, 2005; Tom et al., 2007). Future combinations of inactivation and electrophysiological studies may help to reveal the functional relationships between the AIC and the OFC.

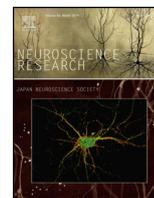
Conclusion

We show that AIC inactivation decreases risk preference in the presently used amount and delay gambling tasks. By contrast, OFC inactivation increases risk preference in these tasks. Within the same subjects, we confirm and expand previous findings regarding OFC in risky decision making, and distinguish the role of the AIC from that of the OFC; by implication, the intact AIC promotes risk taking whereas the intact OFC promotes risk aversion. The relative strength of AIC and OFC activities may impact whether we take a risk or avoid it.

References

- Bechara A, Damasio AR, Damasio H, Anderson SW (1994) Insensitivity to future consequences following damage to human prefrontal cortex. *Cognition* 50:7–15.
- Burke CJ, Tobler PN (2011) Reward skewness coding in the insula independent of probability and loss. *J Neurophysiol* 106:2415–2422.
- Cardinal RN, Pennicott DR, Sugathapala CL, Robbins TW, Everitt BJ (2001) Impulsive choice induced in rats by lesions of the nucleus accumbens core. *Science* 292:2499–2501.
- Contreras M, Ceric F, Torrealba F (2007) Inactivation of the interoceptive insula disrupts drug craving and malaise induced by lithium. *Science* 318:655–658.
- Craig AD (2009) How do you feel now? The anterior insula and human awareness. *Nat Rev Neurosci* 10:59–70.
- Delatour B, Witter MP (2002) Projection from parahippocampal region to the prefrontal cortex in the rat: evidence of multiple pathways. *Eur J Neurosci* 15:1400–1407.
- Doya K (2008) Modulators of decision making. *Nat Neurosci* 11:410–416.
- Edeline JM, Hars B, Hennevin E, Cotillon N (2002) Muscimol diffusion after intracerebral microinjections: a reevaluation based on electrophysiological and autoradiographic quantifications. *Neurobiol Learn Mem* 78:100–124.
- Ernst M, Bolla K, Mouratidis M, Contoreggi C, Matochik JA, Kurian V, Cadet JL, Kimes AS, London ED (2002) Decision-making in a risk-taking task: a PET study. *Neuropsychopharmacology* 26:682–691.
- Evenden JL, Ryan CN (1996) The pharmacology of impulsive behavior in rats: the effects on drugs on response choice with varying delays of reinforcement. *Psychopharmacology* 128:161–170.
- Fukui H, Murai T, Fukuyama H, Hayashi T, Hanakawa T (2005) Functional activity related to risk anticipation during performance of the Iowa gambling task. *Neuroimage* 24:253–259.
- Fuster JM (2008) The prefrontal cortex, fourth edition. London: Academic.
- Ghods-Sharifi S, St Onge JR, Floresco SB (2009) Fundamental contribution by the basolateral amygdala to different forms of decision making. *J Neurosci* 29:5251–5259.
- Hayduk W, Laudie H (1974) Prediction of diffusion-coefficients for nonelectrolytes in dilute aqueous-solutions. *Aiche J* 20:611–615.
- Hoover WB, Vertes RP (2011) Projections of the medial orbital and ventral orbital cortex in the rat. *J Comp Neurol* 519:3766–3801.
- Horst NK, Laubach M (2009) The role of rat dorsomedial prefrontal cortex in spatial working memory. *Neuroscience* 164:444–456.
- Kacelnik A, Bateson M (1996) Risky theories: the effects of variance on foraging decisions. *Am Zool* 36:402–434.
- Kalenscher T, Pennartz CM (2008) Is a bird in the hand worth two in the future? The neuroeconomics of intertemporal decision-making. *Prog Neurobiol* 84:284–315.
- Kuhnen CM, Knutson B (2005) The financial risk taking. *Neuron* 47:763–770.
- Li X, Lu ZL, D'Armenabeau A, Ng M, Bechara A (2010) The Iowa gambling task in fMRI images. *Hum Brain Mapp* 31:410–423.
- Logan FA (1965) Decision making by rats: uncertain outcome choices. *J Comp Physiol Psychol* 59:246–251.
- Mar AC, Walker AL, Theobald DE, Eagle DM, Robbins TW (2011) Dissociable effects of lesions to orbitofrontal cortex subregions on impulsive choice in the rat. *J Neurosci* 31:6398–6404.
- McCoy AN, Platt ML (2005) Risk-sensitive neurons in macaque posterior cingulate cortex. *Nat Neurosci* 8:1220–1227.
- McDonald AJ (1998) Cortical pathways to the mammalian amygdala. *Prog Neurobiol* 55:257–332.
- Mobini S, Body S, Ho MY, Bradshaw CM, Szabadi E, Deakin JF, Anderson IM (2002) Effects of lesions of the orbital prefrontal cortex on sensitivity to delayed and probabilistic reinforcement. *Psychopharmacology* 160:290–298.
- Mohr PN, Biele G, Heekeren HR (2010) Neural processing of risk. *J Neurosci* 30:6613–6619.
- Naqvi NH, Rudrauf D, Damasio H, Bechara A (2007) Damage to the insula disrupts addiction to cigarette smoking. *Science* 315:531–534.
- O'Doherty J, Kringelbach ML, Rolls ET, Hornak J, Andrews C (2001) Abstract reward and punishment representations in the human orbitofrontal cortex. *Nat Neurosci* 4:95–102.
- O'Neill M, Schultz W (2010) Coding of reward risk by orbitofrontal neurons is mostly distinct from coding of reward value. *Neuron* 68:789–800.
- Pais-Vieira M, Lima D, Galhardo V (2007) Orbitofrontal cortex lesions disrupt risk assessment in a novel serial decision-making task for rats. *Neuroscience* 145:225–231.
- Paulus MP, Rogalsky C, Simmons A, Feinstein JS, Stein MB (2003) Increased activation in the right insula during risk-taking decision making is related to harm avoidance and neuroticism. *Neuroimage* 19:1439–1448.
- Paxinos G, Watson C (2007) The rat brain in stereotaxic coordinates, sixth edition. London: Academic.
- Preuschoff K, Quartz SR, Bossaerts P (2008) Human insula activation reflects risk prediction errors as well as risk. *J Neurosci* 28:2745–2752.
- Reynolds SM, Zahm DS (2005) Specificity in the projections of prefrontal and insular cortex to ventral striatopallidum and the extended amygdala. *J Neurosci* 25:11757–11767.
- Rogers RD, Everitt BJ, Baldacchino A, Blackshaw AJ, Swainson R, Wynne K, Baker NB, Hunter J, Carthy T, Booker E, London M, Deakin JF, Sahakian BJ, Robbins TW (1999a) Dissociating deficits in the decision-making cognition of chronic amphetamine abusers, opiate abusers, patients with focal damage to prefrontal cortex, and typtophan-depleted normal volunteers: evidence for monoaminergic mechanisms. *Neuropsychopharmacology* 20:322–339.
- Rogers RD, Owen AM, Middleton HC, Williams EJ, Pickard JD, Sahakian BJ, Robbins TW (1999b) Choosing between small, likely rewards and large,

- unlikely rewards activates inferior and orbital prefrontal cortex. *J Neurosci* 19:9029–9038.
- Roitman JD, Roitman MF (2010) Risk-preference differentiates orbitofrontal cortex responses to freely chosen reward outcomes. *Eur J Neurosci* 31:1492–1500.
- Rushworth MF, Noonan MP, Boorman ED, Walton ME, Behrens TE (2011) Frontal cortex and reward-guided learning and decision-making. *Neuron* 70:1054–1069.
- Schilman EA, Uylings HB, Galis-de Graaf Y, Joel D, Groenewegen HJ (2008) The orbital cortex in rats topographically projects to central parts of the caudate-putamen complex. *Neurosci Lett* 432:40–45.
- Schultz W (2011) Potential vulnerabilities of neuronal reward, risk and decision mechanisms to addictive drugs. *Neuron* 69:603–617.
- Shi CJ, Cassell MD (1998) Cortical, thalamic, and amygdaloid connections of the anterior and posterior insular cortices. *J Comp Neurol* 399:440–468.
- Takahashi YK, Roesch MR, Stalnaker TA, Haney RZ, Calu DJ, Taylor AR, Burke KA, Schoenbaum G (2009) The orbitofrontal cortex and ventral tegmental area are necessary for learning from unexpected outcomes. *Neuron* 62:269–280.
- Tobler PN, O'Doherty JP, Dolan RJ, Schultz W (2007) Reward value coding distinct from risk attitude-related uncertainty coding in human reward systems. *J Neurophysiol* 97:1621–1632.
- Tom SM, Fox CR, Trepel C, Poldrack RA (2007) The neural basis of loss aversion in decision-making under risk. *Science* 315:515–518.
- Tversky A, Kahneman D (1981) The framing of decisions and the psychology of choice. *Science* 211:453–458.
- Van De Werd HJ, Uylings HB (2008) The rat orbital and agranular insular prefrontal cortical areas: a cytoarchitectonic and chemoarchitectonic study. *Brain Struct Funct* 212:387–401.
- Venkatraman V, Payne JW, Bettman JR, Luce MF, Huettel SA (2009) Separate neural mechanisms underlie choices and strategic preferences in risky decision making. *Neuron* 62:593–602.
- Weber EU, Shafir S, Blais AR (2004) Predicting risk sensitivity in humans and lower animals: risk as variance or coefficient of variation. *Psychol Rev* 111:430–445.
- Winstanley CA, Theobald DE, Cardinal RN, Robbins TW (2004) Contrasting roles of basolateral amygdala and orbitofrontal cortex in impulsive choice. *J Neurosci* 24:4718–4722.
- Xue G, Lu Z, Levin IP, Bechara A (2010) The impact of prior risk experiences on subsequent risky decision-making: the role of the insula. *Neuroimage* 50:709–716.



Dopaminergic and serotonergic modulation of anterior insular and orbitofrontal cortex function in risky decision making



Hironori Ishii^a, Shinya Ohara^a, Philippe N. Tobler^b, Ken-Ichiro Tsutsui^a, Toshio Iijima^{a,*}

^a Division of Systems Neuroscience, Tohoku University Graduate School of Life Sciences, Sendai 980-8577, Japan

^b Laboratory for Social and Neural Systems Research, Department of Economics, University of Zurich, Blümlisalpstrasse 10, 8006 Zürich, Switzerland

ARTICLE INFO

Article history:

Received 5 August 2014

Received in revised form 15 October 2014

Accepted 26 November 2014

Available online 4 December 2014

Keywords:

Risk-based decision making

Rat

Gambling

Reward

ABSTRACT

Systemic manipulations have shown that dopamine and serotonin systems are involved in risky decision making. However, how they work within the regions that implement risky choices remains unclear. The present study investigated the role of dopamine and serotonin in the rat anterior insular cortex (AIC) and orbitofrontal cortex (OFC), which make different contributions to risky decision making. We examined the effects of local injection of the D₁ (SCH23390), D₂ (eticlopride), 5-HT_{1A} (WAY100635) and 5-HT_{2A} (M100907) receptor antagonists into the AIC or OFC on risk preference in a gambling task. We found that different dopamine and serotonin receptor subtypes in the AIC and OFC differentially influence risky decision making: intra-AIC injection of D₂R or 5-HT_{1A}R blockers increased risk preference whereas intra-OFC injection of the 5-HT_{1A}R blocker decreased it. Risk preference was not altered by intra-AIC injection of D₁R and 5-HT_{2A}R blockers or by intra-OFC injection of D₁R, D₂R, and 5-HT_{2A}R blockers. Furthermore, additional analyses revealed that dopamine and serotonin signaling in the AIC have outcome history-dependent effects on risk taking: intra-AIC injection of the D₂R blocker increased risk preference particularly after winning in a previous risky choice, whereas intra-AIC injection of the 5-HT_{1A}R blocker increased risk preference after losing.

© 2014 Elsevier Ireland Ltd and the Japan Neuroscience Society. All rights reserved.

1. Introduction

A risky choice is the selecting of an option that, like the toss of a coin, has an uncertain outcome. To obtain greater gains we sometimes need to choose a risky option rather than playing it safe, although excessive risk taking also can lead to ruin. The two neuromodulators, dopamine and serotonin, have been implicated in risky decision making (Cools et al., 2011; Rogers, 2011; Takahashi, 2012). For example, reducing dopamine levels impairs optimal performance in the Iowa gambling task (Sevy et al., 2006). Systemic administration of amphetamine increases risk taking of rats, an effect that is blocked by co-administration of either D₁ or D₂ receptor antagonists (St Onge and Floresco, 2009). Moreover, transgenic mice lacking GABA_A receptors in dopamine neurons show a higher preference for risk than controls (Parker et al., 2011). People with the short variant allele of the serotonin transporter polymorphism gene (presumably resulting in more serotonin left in the synapse)

are more averse to financial risk than people who have the long allele of the gene (Kuhnen and Chiao, 2009). Serotonin-depleted monkeys and rats (Long et al., 2009; Koot et al., 2012) show higher risk preference. Higher serotonin levels thus appear to be associated with higher risk aversion whereas at least some research suggests that higher dopamine levels are associated with higher risk preference.

Thus, global manipulations of dopaminergic and serotonergic systems have provided evidence that these neuromodulators are involved in risky decision making. Recent studies have begun to investigate the function of these neuromodulators in some of their target regions during risky decision making. For example, St Onge and her colleagues found that local injection of a D₁R blocker into the medial PFC decreased risk preference, while local injection of a D₂R blocker increased it (St Onge et al., 2011; see also Mai and Hauber, 2012). However, dopaminergic and serotonergic neurons project to partly different target regions with different functions. Moreover, the distributions of receptor subtypes are largely different between target regions. Thus, the question arises “how dopamine and serotonin work within given target regions.”

In the present study, we investigated the roles of dopamine and serotonin in the anterior insular cortex (AIC) and the orbitofrontal cortex (OFC). Human studies have shown these regions to be

* Corresponding author at: Division of Systems Neuroscience, Tohoku University Graduate School of Life Sciences, 2-1-1 Katahira, Aoba-ku, Sendai 980-8577, Japan. Tel.: +81 22 217 5046; fax: +81 22 217 5048.

E-mail address: t-ijima@m.tohoku.ac.jp (T. Iijima).

involved in risk processing (e.g., Tobler et al., 2007; Burke et al., 2013). In rats, inactivation of the AIC decreases risk preference and inactivation of the OFC increases it (Ishii et al., 2012), suggesting that the AIC and OFC make different contributions to risky decisions. These regions also differ in dopaminergic innervation: the AIC receives substantial dopaminergic projections, whereas the OFC receives little or none (Berger et al., 1976, 1991; Ohara et al., 2003; Van De Werd and Uylings, 2008). Accordingly, clear expression of D₁R and D₂R mRNA can be observed in the AIC but not the OFC (Santana et al., 2009). In contrast, both the AIC and the OFC receive serotonergic innervation (Linley et al., 2013). The major serotonin receptor subtypes, 5-HT_{1A}R and 5-HT_{2A}R, are expressed in both regions (Santana et al., 2004). Given these data, it is conceivable that blocking dopamine and serotonin in the AIC and OFC reveals distinct, target region-specific roles of the two neuromodulators in risky decision making.

2. Materials and methods

2.1. Animals

Thirty-four male Wistar rats initially weighing 200–250 g were used for the experiments. Training of the behavioral task took over 2 months, leading to final weights at test of 250–310 g. During behavioral and pharmacological tests, individual body weight was stable. Rats were individually housed under 12-h light/dark cycles with light onset at 8:00 P.M. Training and testing took place during the dark phase. They had ad libitum access to food for the duration of the experiments but limited access to drinking water in their home-cage. Usually, the rats received all the water needed in a day through the behavioral experiments. To prevent weight loss, their body weights were monitored daily, and if necessary, they were given additional water after the daily experiment. The experimental plan of the present study was approved and licensed (2013LSA-006-1) by the Institutional Animal Care and Use Committee of Tohoku University. Throughout the experiments, animals were treated in accordance with the National Institutes of Health *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* and Tohoku University *Guidelines for Animal Care and Use*.

2.2. Overall structure of the experiment

We tested the effects of blocking four representative receptor subtypes—D₁R, D₂R, 5-HT_{1A}R, and 5-HT_{2A}R—in either the AIC or OFC on rats' risky decision making in the gambling task we had used in a previous study (for details, see Ishii et al., 2012). All procedures were the same as those used in that study; only the drugs were different. The basic task for the rat was to get water by choosing one of two levers associated with different outcomes. After the rats were trained to discriminate the different reward amounts provided by the two levers, their behavioral performance was tested in a gambling task. Guide cannulae for drug injections were then implanted and, after a recovery period of 7 days, pharmacological tests in the gambling task and reward-amount-discrimination task as a control were conducted.

2.3. Apparatus

Experiments were conducted in dimly lit sound-attenuated boxes (60 cm × 45 cm × 35 cm) (Fig. 1A). On one wall of each box was a nose-poke hole at the center and two protruding levers, one on each side of the hole and each with a white LED above it. A nozzle delivering water was on the opposite wall. Nose-poke responses were detected by a horizontal infrared beam (OMRON). Each device was connected to a computer via a Digital I/O card

(PCI-7248, ADLINK technology) and controlled by an in-house software program (based on C++).

2.4. Training: reward-amount-discrimination task

The rats were first trained to discriminate differences in the number of water drops. A trial consisted of three events: a nose-poke into the central hole to start a trial, a press of one of the available levers (availability was indicated by the LED-ON), and delivery of drops of water from the nozzle on the opposite wall of the box. One drop of water was 50 μl, the interval between each drop was 700 ms, and water was given 3 s after lever press. If the rat did not press either lever within 10 s after nose-poke, the trial was aborted and the LED was turned off until the next trial. Rats first learned in 40 forced-choice trials that the high-amount option (lever) provided 4 drops of water and the low-amount option provided 2 drops. In subsequent discrimination trials, rats were given 100 free choices between the high- and low-amount options. Assignment of outcomes to levers was counterbalanced between sessions. Sessions were conducted up to three times a day and lasted over 3 h. A rat was moved to the next step (the gambling task) when it had performed 10 or more consecutive sessions in which it had chosen the high-amount option in more than 65% of the trials. In most sessions the rats chose the better option in over 85% of the trials.

2.5. Gambling task

The task was modified from previously described procedures (Logan, 1965). The rats were required to choose between a risky option (variable amount: either 4 drops or no water, 50–50 chance, random order) and a sure option (fixed amount: x drops of water; $x=1, 2, 3, 4$; with x fixed in a session). The session and trial structures were the same as in the amount-discrimination task. Before we conducted pharmacological experiments, we investigated behavioral performance without drug injections at each x in the gambling task. More than 10 sessions were conducted at each level of x , and for each rat the percent choice of the risky option was the average of the last 10 consecutive sessions. Subjective equivalence points between risky and sure options (percent choice of the risky option = 50%) were based on logistic sigmoid functions [$f(x) = a + b / (1 + \exp(-(x - c)/d))$], where a , b , c , and d were free parameters] which were fitted to the observed choices using the least-square method. Drug tests were performed only at the x closest to the subjective equivalence point.

2.6. Surgery

The rats were surgically implanted with four stainless steel guide cannulae (0.6 mm in diameter) targeting 1 mm above bilateral AIC (AP +3.0, ML ±4.2, DV –5.6 mm) and OFC (AP +4.4, ML ±2.2, DV –5.0 mm). Under ketamine (80.0 mg/kg) and xylazine (0.8 mg/kg) anesthesia, the scalp was retracted, craniotomies were made bilaterally above the target sites, and four guide cannulae were inserted and fixed with dental cement. To prevent clogging by blood clots, dummy injection cannulae (0.3 mm in diameter) were inserted into the guide cannulae. Rats were given 1 week of recovery from the surgery.

2.7. Drugs

The following drugs were used: the D₁R antagonist *R*-(+)-SCH23390 hydrochloride (2.0 and 4.0 μg/μl), the D₂R antagonist eticlopride hydrochloride (2.0 and 4.0 μg/μl), the 5-HT_{1A}R antagonist WAY100635 (2.0 and 4.0 μg/μl), and the 5-HT_{2A}R antagonist M100907 (0.2 and 2.0 μg/μl). Moreover, 0.9% saline served as a

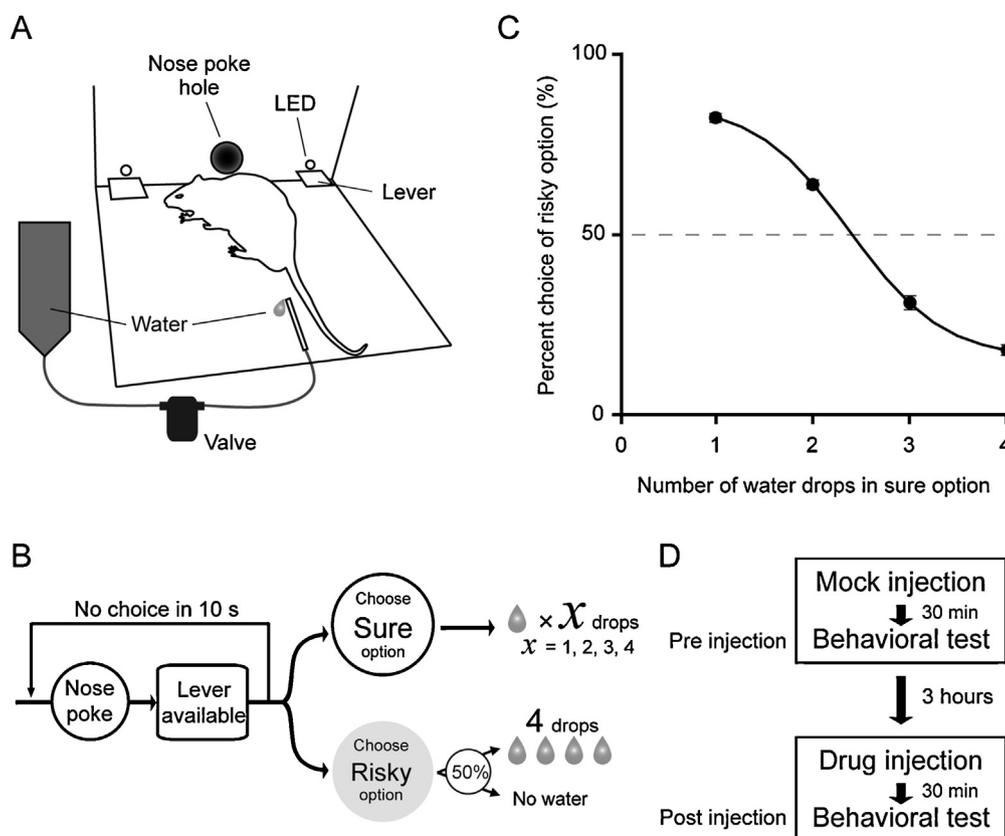


Fig. 1. Task design. (A) Experimental apparatus with nose-poke hole in the middle of the two levers. (B) Sequence of events in a trial of the gambling task. The rats were required to nose-poke to initiate a trial and then to press a lever. Water was given as reward. The first 40 trials in each session were forced-choice trials in which the rats learned the relationship between the lever locations and the outcomes. In the following 100 free-choice trials, the rats could choose between the two options. (C) Percent choice of the risky option in the gambling task without pharmacological treatment ($N = 34$). Error bars indicate SEM. (D) Injection procedure. Each drug-injection session (post-injection) was conducted more than 3 h after the baseline session (pre-injection) on the same day. Drug or mock injections were conducted 30 min before the behavioral tests.

control. All drugs were dissolved in saline except for M100907, which was dissolved with lactic acid. The choice of concentrations of dopamine blockers was guided by the results of a previous study (St Onge et al., 2011, in which $2.0 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ SCH23390 and eticlopride in medial PFC affected risky decision making). Similarly, concentrations of serotonin blockers were based on previous studies (Fujita et al., 2008; Robinson et al., 2008; Furr et al., 2012) and our preliminary experiment. The volume of drugs was 100 nl per hemisphere. We used slightly smaller drug volumes than in the previous study (St Onge et al., 2011) in order to avoid diffusion between adjacent AIC and OFC regions while still ensuring that the extent of drug diffusion was sufficient to cover the target region.

2.8. Injection procedure

Drug-injection sessions (hereafter called post-injection sessions) were conducted more than 3 h after the normal baseline sessions (pre-injection sessions) on the same day (Fig. 1D). In each experiment there was one post-injection session. It took about 30 min and consisted of 140 trials. Drugs were injected 30 min before the behavioral tests. During the drug injection, the rats were handled on the experimenter's lap without anesthesia. The injection cannulae were stainless steel needles 0.3 mm in diameter and extended 1 mm from the tip of the guide cannulae. They were connected to a microliter Hamilton syringe by polyethylene tubing 0.26 mm in diameter, and drugs were delivered at 50 nl/min for 2 min (100 nl per hemisphere) under syringe infusion pump control. Injection cannulae were left in place for 1 min after injection to allow diffusion of the fluid. Injections in each hemisphere

were performed separately, and the entire injection procedure took 7–10 min. Finally, we checked for clogging of the injection cannula after the injection. In order to habituate the rats to the injection procedure, they underwent a mock injection during the last five sessions before post-injection conditions.

There were nine possible test conditions ($=4 \text{ drugs} \times 2 \text{ doses} + \text{saline}$) for each target region. To avoid the accumulation of brain damage by repeated injection, a rat received up to three different test conditions out of the nine possible ones for each target region. To avoid residual drug effects at the next condition, all drug injections were spaced at least 2 days apart, and conducted only after choice performance had been returned back to pre-injection levels. Moreover, the order of test conditions was randomized among individuals in order to eliminate potential artifacts due to the particular combination of drugs and injection order.

2.9. Histology

After experiments were completed, the brains were sliced into 50- μm coronal sections and stained with thionine. Slices were examined under a microscope to identify the locations of the cannulae. Cannulae placements were classified using *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates* (Paxinos and Watson, 2007).

2.10. Data analysis

Statistical analysis was conducted using SPSS and EXCEL. Four behavioral parameters were measured for each animal: percent choice of the risky option in 100 free choices, average response

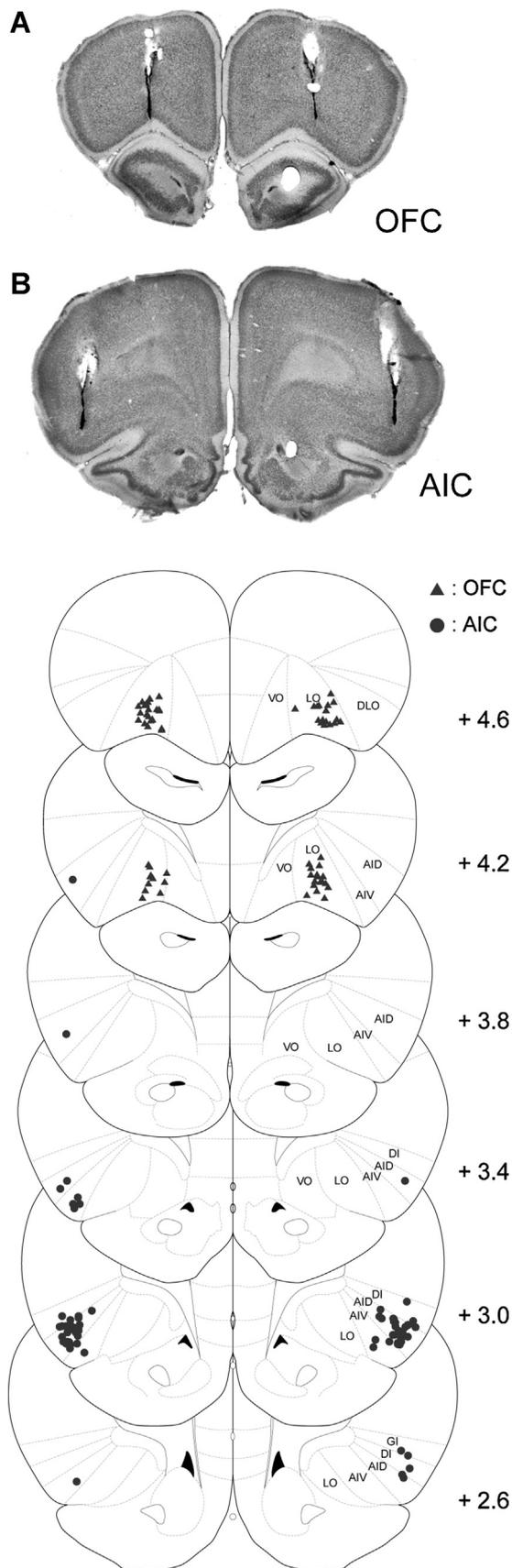


Fig. 2. Locations of injections. Rats were implanted bilaterally with guide cannulae 0.6 mm in diameter through which injection cannulae 0.3 mm in diameter were inserted. (A) Typical tracks of guide and injection cannulae. (B) Locations of injection cannulae tips. Plates are adaptations from *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates* (Paxinos and Watson, 2007). AID: dorsal agranular insular cortex, AIV:

time in 100 free choices, correct rate in 40 forced choices, and number of reaction omissions in the whole session. For the analysis of drug effects on risky choices, first the changes in risky choice (the percent choice of the risky option post-injection minus that pre-injection) were tested by one-sample *t*-test (significance level: $p < 0.05$) within each test condition. Then the changes in risky choice between test conditions were tested with Dunnett's test (significance level: $p < 0.05$), setting saline condition to be control. Pre- versus post-injection session comparisons of response times were made using paired *t*-tests (significance level: $p < 0.05$). Pre-versus post-injection session comparisons of correct rates and of the number of reaction omissions were made by non-parametric Wilcoxon signed-ranks tests (significance level: $p < 0.05$) because the two measures were not normally distributed.

3. Results

3.1. Behavior in the gambling task

Before injections the behavioral performance in all tasks was similar to that observed in our previous study (Ishii et al., 2012). Fig. 1C shows the choice performance data in the gambling task. When the sure option provided 4 drops of water, the rats frequently chose it. Moreover, when the sure option provided fewer drops, the rats chose it less frequently. When the sure option provided 2 drops of water ($x = 2$, i.e. expected value of risky option), 26 out of 34 rats exhibited a significant preference for the risky option ($66.2 \pm 1.2\%$ choice for the risky option), and the remaining eight rats had no significant preference ($56.4 \pm 2.3\%$; in all rats comparison was performed against chance level by one-sample *t*-tests). In the population, the percent choice of the risky option was significantly higher than chance level ($63.9 \pm 1.3\%$, $t[33] = 10.71$, $p < 0.05$, by one-sample *t*-test). In the following pharmacological experiment, the x value of the sure option was set nearest to the subjective equivalence point between the risky and sure option (percent choice of the risky option = 50%) in order to allow for drug injections to increase or decrease risk preference. As in the previous study (Ishii et al., 2012) the subjective equivalence point derived from the logistic sigmoid curve fitting to the observed values ($r^2 > 0.99$) was 2.4. Therefore the effects of dopamine and serotonin receptor blockers on risk preference were tested at $x = 2$.

3.2. Effects of dopamine and serotonin blockers in the AIC and OFC on risk preference

Fig. 2 shows tracks of the cannulae and injection sites. Although each target region received multiple drug injections, the tissue damage was limited to the tracks of the cannulae (Fig. 2A). In addition, in recovery sessions conducted on days after pharmacological tests, choice performance returned to pre-injection levels; all *p* values of paired *t*-tests comparing performance between pre-injection and recovery at each drug injection were larger than 0.05. Thus the effects of drug injections did not carry over to the next drug injection tests. Besides, baseline choice performance was stable in the last five pre-injection sessions (the average of the standard deviations of the choice performances in the last five pre-injection sessions was 11.5).

Risk preference levels differed across individuals as mentioned above and to some extent across days. To account for these differences, we assessed drug effects on risky choice within-individuals and in relation to pre-injection behavior (i.e. percent choice of

ventral agranular insular cortex, DI: dysgranular insular cortex, DLO: dorsolateral orbitofrontal cortex, GI: granular insular cortex, LO: lateral orbitofrontal cortex, VO: ventral orbitofrontal cortex.

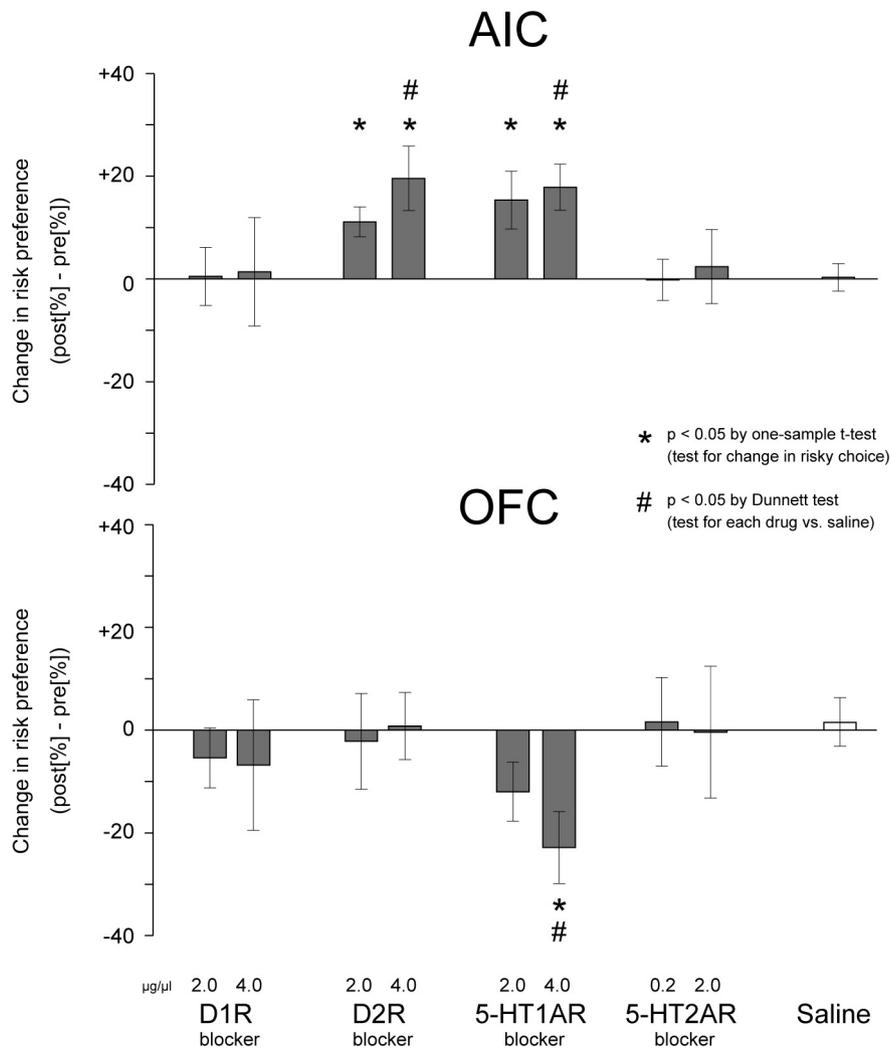


Fig. 3. Effects of drug injections into AIC and OFC on risk preference in the gambling task. Changes in percent choice of the risky option from pre- to post-injection (i.e. percent choice of the risky option post-injection minus that of pre-injection) are shown. Changes in risky choice were tested by one-sample t -tests ($*p < 0.05$), and the effect of each drug was compared against saline with Dunnett's test ($\#p < 0.05$). Error bars indicate SEM.

the risky option post-injection minus that of pre-injection, Fig. 3; raw data are shown in Supplementary Fig. S1). First, we tested the changes in risky choice within each test condition by using one-sample t -tests (significance level: $p < 0.05$). The D₁R blocker SCH23390 did not have significant effects on risky choice in either the AIC (2.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, $t[7] = -0.09$, $p = 0.93$; 4.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, $t[4] = -0.13$, $p = 0.90$) or the OFC (2.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, $t[4] = 0.93$, $p = 0.41$; 4.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, $t[4] = 0.54$, $p = 0.62$). The D₂R blocker eticlopride had significant effects when injected into the AIC (2.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, $t[8] = -3.85$, $p = 0.005$; 4.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, $t[6] = -3.12$, $p = 0.02$) but not when injected into the OFC (2.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, $t[4] = 0.26$, $p = 0.83$; 4.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, $t[4] = -0.12$, $p = 0.91$). The 5-HT_{1A}R blocker WAY100635 had significant effects both when injected into the AIC (2.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, $t[5] = -2.73$, $p = 0.04$; 4.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, $t[6] = -3.98$, $p = 0.007$) and when injected into the OFC (2.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, $t[5] = 2.09$, $p = 0.09$; 4.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, $t[6] = 3.26$, $p = 0.02$), but the directions of the effects of AIC and OFC injections were opposite. The 5-HT_{2A}R blocker M100907 did not have significant effects when injected into either the AIC (0.2 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, $t[4] = 0.05$, $p = 0.96$; 2.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, $t[4] = -0.33$, $p = 0.76$) or the OFC (0.2 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, $t[4] = 0.06$, $p = 0.95$; 2.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, $t[4] = -0.19$, $p = 0.86$). Paired t -tests found no significant differences between the two concentrations of blockers (2.0 versus 4.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ D₂R blocker in the AIC ($p = 0.25$) and the OFC ($p = 0.80$); 2.0 versus 4.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 5-HT_{1A}R blocker in the AIC ($p = 0.73$) and the OFC ($p = 0.26$). Risk preference was not affected

by saline injected into either the AIC ($t[8] = -0.12$, $p = 0.90$) or the OFC ($t[8] = -0.35$, $p = 0.73$), and the effects of drugs did not depend on baseline risk preference levels.

Supplementary Fig. S1 related to this article can be found, in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.neures.2014.11.009>.

We next compared the effect of each drug against that of saline by using Dunnett's test and found that the D₂R and 5-HT_{2A}R blockers significantly increased risk preference in the AIC (4.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, $p = 0.02$; 4.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, $p = 0.04$, respectively) and that 5-HT_{2A}R blockers significantly decreased risk preference in the OFC (4.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, $p = 0.04$). Thus, dopamine and serotonin appear to reduce risk preference through local effects on D₂ and 5HT_{1A} receptors in the insula. Moreover, serotonin tends to increase risk preference through local effects on 5HT_{1A} receptors in the OFC.

3.3. Choice after winning or losing the gamble

Both D₂R and 5-HT_{1A}R blockers in the AIC increased risk preference similarly. To test for differences between them, we focused on how the experience of previous outcomes affects subsequent decisions. Interestingly, without drugs the rats showed higher risk preference after losing the gamble (getting no reward in the previous trial) than after winning the gamble (getting 4 drops of water in the previous trial); specifically, the rats chose the risky option in

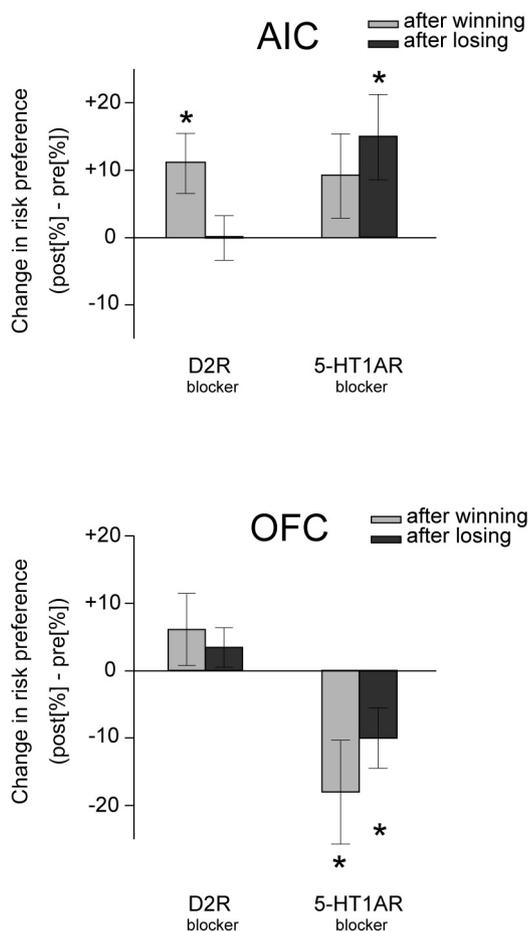


Fig. 4. Effects of D_2 and 5-HT_{1A} blockers in the AIC and OFC on risk preference after winning the gamble and after losing the gamble. The data for both concentrations of each drug were pooled. Each bar shows the change in percent choice of the risky option: the percent choice of the risky option in the post-injection session minus that in the pre-injection session. Statistical tests were made using one-sample t -tests ($*p < 0.05$). Error bars indicate SEM.

78.0% of trials after losing the gamble and in 67.9% after winning the gamble. To investigate how intra-AIC injection of either D_2 or 5-HT_{1A} blockers affected these tendencies, we compared the percent choice of the risky option after winning or losing the gamble in pre- versus post-injection sessions. In order to compensate for the reduction of power that was caused by splitting trials up into those following a win, a loss, or a sure outcome we pooled the data across different doses for this analysis.

Blocking D_2 receptors in the AIC significantly increased percent choice of the risky option after winning the gamble but not after losing the gamble ($N = 16$, $p < 0.05$, $p = 0.99$, respectively, by one-sample t -test). By contrast, blocking 5-HT_{1A} receptors in the AIC significantly increased percent choice of the risky option after losing but not after winning ($N = 13$, $p < 0.05$, $p = 0.13$, respectively, by one-sample t -test). As mentioned above, the D_2 R blocker in the OFC did not change the percent choice of the risky option. It also did not affect choice of the risky option conditional on previous wins or losses ($N = 10$, $p = 0.28$, $p = 0.27$, respectively, by one-sample t -test). Finally, the decrease in the percent choice of the risky option induced by the 5-HT_{1A} R blocker in the OFC occurred similarly after both wins and losses ($N = 13$, $p < 0.05$, $p < 0.05$, respectively, by one-sample t -test). The changes in risk preference from pre- to post-injection (i.e., percent choice of the risky option post-injection minus percent choice of the risky option of pre-injection) are summarized in Fig. 4.

3.4. Control analysis: effects on other behavioral measures

Reaction omission and wrong lever presses in forced choices rarely occurred even with drug injections (Table 1), but injections unspecifically appeared to slow response times. In particular, both AIC and OFC injections of $2.0 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ of the D_1 R blocker had a slowing effect. Response times tended to increase also after injections of $4.0 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ of the D_1 R blocker in both the AIC and OFC, $2.0 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ of the 5-HT_{1A} R blocker in the OFC, and $2.0 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ of the 5-HT_{2A} R blocker in the AIC (p values between 0.05 and 0.10). Increases in response times could be caused by deficits in motor performance or decision time. Note however that the response times after drug injections did not differ significantly from those after saline injections. The slower response times observed 1 day after injections thus seem to be unrelated to the drugs but to arise from injections more generally.

3.5. Control task: the effects on reward amount discrimination

The main data suggest that blocking D_2 or 5HT_{1A} receptor subtypes has local effects on risk preference. However, a deficit in the ability to discriminate reward amounts could also change choice performance in the gambling task. In our previous study, AIC and OFC inactivations did not affect reward amount discrimination (Ishii et al., 2012). We also tested the effects of the D_2 R blocker in the AIC and the 5-HT_{1A} R blocker in both the AIC and OFC on reward amount discrimination (choosing between 4 and 2 drops of water). None of the injections affected the percent choice of the larger-reward option (AIC D_2 R blocker: pre-injection $[91.3 \pm 6.3\%]$, post-injection $[86.0 \pm 7.0\%]$, $N = 3$; AIC 5-HT_{1A} R blocker: pre-injection $[94.0 \pm 2.0\%]$, post-injection $[93.7 \pm 3.5\%]$, $N = 3$; OFC 5-HT_{1A} R blocker: pre-injection $[93.0 \pm 1.2\%]$, post-injection $[93.7 \pm 1.9\%]$, $N = 3$).

4. Discussion

The prefrontal cortex (PFC) is thought to play an important role in risky decision making (Rushworth et al., 2011) and receives both dopaminergic and serotonergic fibers (Ohara et al., 2003; Linley et al., 2013). Here, we investigated the roles of these neurotransmitters in two sub regions of the PFC: the anterior insular cortex (AIC) and the orbitofrontal cortex (OFC), by locally injecting two different receptor subtype blockers each for dopamine and serotonin. The results are summarized in Table 2. Blocking D_2 and 5-HT_{1A} receptors in the AIC increases risk preference in rats. Moreover, intra-AIC injection of the D_2 R blocker increases risk preference particularly after winning whereas intra-AIC injection of the 5-HT_{1A} R blocker increases it particularly after losing. These results not only confirm that dopamine and serotonin modulate the function of the AIC in risky decision making but also indicate that the two neuromodulators have different outcome history-dependent functions, which opens interesting avenues for further research on gambling.

4.1. Dopamine in the AIC and the OFC

The present finding that blocking D_2 receptors in the AIC increases risk preferences is consistent with previous reports that blocking D_2 receptors in the medial PFC increases risk preference, including a selective effect on trials after winning gambles (St Onge et al., 2011). It was also reported that stimulating D_1 receptors in the medial PFC has no effect on risk preference although blocking D_1 receptors in the medial PFC decreases risk preference. Given that the AIC expresses both D_1 R and D_2 R mRNA, it may appear surprising that injecting the D_1 R blocker into the AIC did not affect risk preference. However, since D_1 R and D_2 R mRNA are expressed in different neuronal populations (with the exception of layer 5) in

Table 1

Control analyses. Unspecific or no effects of drug injections on response times (from nose-poke to lever press) in 100 free choices, correct rate in 40 forced choices, and number of reaction omissions (no lever press during 10 s after nose-poke) in the whole session.

		Anterior insular cortex			Orbitofrontal cortex		
		pre	post		pre	post	
<i>Response time (ms)</i>							
D ₁ R blocker	2.0 μg/μl	1136 ± 77	1361 ± 102	*	1081 ± 81	1250 ± 53	*
	4.0 μg/μl	1099 ± 73	1706 ± 270	ns.	1074 ± 90	1610 ± 198	ns.
D ₂ R blocker	2.0 μg/μl	1202 ± 70	1482 ± 163	ns.	1271 ± 180	1370 ± 187	ns.
	4.0 μg/μl	1036 ± 53	1149 ± 114	ns.	1114 ± 77	1248 ± 108	ns.
5-HT _{1A} R blocker	2.0 μg/μl	1580 ± 210	1521 ± 142	ns.	1242 ± 48	1484 ± 110	ns.
	4.0 μg/μl	1353 ± 85	1246 ± 55	ns.	2428 ± 124	1311 ± 47	ns.
5-HT _{2A} R blocker	0.2 μg/μl	1319 ± 122	1218 ± 73	ns.	1251 ± 139	1226 ± 42	ns.
	2.0 μg/μl	1210 ± 105	1419 ± 150	ns.	1099 ± 76	1244 ± 70	ns.
Saline		1047 ± 73	1327 ± 206	ns.	1157 ± 100	1367 ± 185	ns.
<i>Correct rate (%)</i>							
D ₁ R blocker	2.0 μg/μl	100 ± 0	100 ± 0	ns.	100 ± 0	99.5 ± 0.5	ns.
	4.0 μg/μl	99.5 ± 0.5	99.5 ± 0.5	ns.	100 ± 0	100 ± 0	ns.
D ₂ R blocker	2.0 μg/μl	100 ± 0	99.2 ± 0.4	ns.	99.5 ± 0.5	100 ± 0	ns.
	4.0 μg/μl	99.3 ± 0.5	100 ± 0	ns.	100 ± 0	100 ± 0	ns.
5-HT _{1A} R blocker	2.0 μg/μl	99.6 ± 0.4	99.3 ± 0.4	ns.	97.8 ± 1.1	99.6 ± 0.4	ns.
	4.0 μg/μl	99.3 ± 0.5	96.8 ± 3.2	ns.	99.3 ± 0.5	99.6 ± 0.4	ns.
5-HT _{2A} R blocker	0.2 μg/μl	98.5 ± 1.0	99.0 ± 0.6	ns.	96.5 ± 1.8	98.0 ± 0.9	ns.
	2.0 μg/μl	99.5 ± 0.5	100 ± 0	ns.	99.5 ± 0.5	99.0 ± 0.6	ns.
Saline		100 ± 0	99.6 ± 0.4	ns.	100 ± 0	100 ± 0	ns.
<i>Reaction omission</i>							
D ₁ R blocker	2.0 μg/μl	0.3 ± 0.2	0.4 ± 0.3	ns.	0.2 ± 0.2	0 ± 0	ns.
	4.0 μg/μl	0.2 ± 0.2	1.4 ± 0.9	ns.	0.2 ± 0.2	1.6 ± 0.9	ns.
D ₂ R blocker	2.0 μg/μl	0 ± 0	0 ± 0	ns.	0.4 ± 0.2	0 ± 0	ns.
	4.0 μg/μl	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1	ns.	0.2 ± 0.2	0.2 ± 0.2	ns.
5-HT _{1A} R blocker	2.0 μg/μl	0.7 ± 0.3	0.7 ± 0.4	ns.	0.5 ± 0.3	0.5 ± 0.2	ns.
	4.0 μg/μl	0.6 ± 0.3	0 ± 0	ns.	0.7 ± 0.5	0.6 ± 0.4	ns.
5-HT _{2A} R blocker	0.2 μg/μl	0 ± 0	0.2 ± 0.2	ns.	0.8 ± 0.6	0.2 ± 0.2	ns.
	2.0 μg/μl	0.8 ± 0.2	0.4 ± 0.2	ns.	1.0 ± 0.4	0.4 ± 0.2	ns.
Saline		0.3 ± 0.2	0.3 ± 0.2	ns.	0.3 ± 0.2	0.6 ± 0.3	ns.

Values: mean ± SEM. ns.: not significant.

* $p < 0.05$.

the rat prefrontal cortex (Santana et al., 2009), it is conceivable that D₂R-containing AIC neurons may preferentially contribute to risky decision making.

The fact that intra-OFC injections of D₁R and D₂R blockers had no effect on risk preference is consistent with scarcity of dopaminergic fibers (Ohara et al., 2003; Van De Werd and Uylings, 2008) and expressions of D₁R and D₂R mRNA (Santana et al., 2009) in that region in the rodent. Conversely, the OFC projects to midbrain dopamine neurons (Hoover and Vertes, 2011), and the OFC may thereby affect regions receiving strong dopaminergic input. Given that the OFC suppresses risk-seeking (Ishii et al., 2012) it may do so via stimulation of midbrain dopamine neurons projecting to the AIC.

Midbrain dopamine neurons code a wide variety of reward value parameters including reward probability and risk (Fiorillo et al., 2003). In risky situations as used here, where the subject has learned about the possible outcomes and their probabilities of occurrence (i.e., equal chances of receiving and not receiving a

reward), dopamine neurons show phasic firing increases after wins and pauses after losses (Oyama et al., 2010; Fiorillo, 2011). Given these properties, the dopamine responses to wins may serve to suppress repeated choice of the risky option after a win via D₂ receptors in the AIC.

4.2. Serotonin in the AIC and the OFC

We found that 5-HT_{1A}R blocker increased risk preference in the AIC whereas it decreased risk preference in the OFC. To our knowledge this is the first study showing target region-specific roles of serotonin in risky decision making.

In contrast to the win-related role of dopamine, our data suggest that AIC serotonin may be involved in risky decision making particularly after losing and suppress subsequent risk taking via 5-HT_{1A} receptors. Serotonin is thought to play a key role in negative reinforcement and loss aversion (Tanaka et al., 2009; Cools et al., 2011). Global serotonin depletion in monkeys and rats also

Table 2

Summary of present results; effects of receptor subtype selective antagonist in the AIC and OFC. An upward arrow or a downward arrow indicates increase or decrease of risk preference, respectively. Note that blocking 5HT_{1A} receptors has opposite effects on risk taking in AIC and OFC.

Outcome history	Target region			
	AIC		OFC	
	After winning	After losing	After winning	After losing
<i>Type of receptor subtype selective blocker</i>				
D ₁ R	–	–	–	–
D ₂ R	↑	–	–	–
5-HT _{1A} R	–	↑	↓	↓
5-HT _{2A} R	–	–	–	–

promotes risky choice after punishment arising from a risky choice (Long et al., 2009; Koot et al., 2012). Our data are consistent with these findings and suggest that one route in which these effects may arise is through 5-HT_{1A} receptors in the AIC.

The 5-HT_{1A}R blocker in the OFC decreased risk preference both after winning and after losing. Thus, OFC serotonin appears to suppress the natural function of the OFC in risky decision making regardless of outcome history. OFC serotonin is thought to be involved in behavioral flexibility and adjustment to changes in stimulus–outcome contingencies (Roberts, 2011). In the present study, OFC dysfunction due to 5-HT_{1A} receptor blockade might have reduced overall sensitivity to the changing outcomes of the risky option. In any case, the 5-HT_{1A} receptors in the OFC appear not to act specifically on the link between either gains or losses and subsequent action selection.

Given that the outcome–history dependency of the effects of serotonin receptor blockade differed between the AIC and OFC, it is conceivable that serotonin has different functions in the two regions. In this context it is worth noting that systemic manipulations of serotonin in punishment (as well as reward and decision making) tasks have not yielded consistent findings across studies (Rogers et al., 2003; Murphy et al., 2009). In addition, neural responses of raphe neurons to reward and other task events are heterogeneous (Ranade and Mainen, 2009; Inaba et al., 2013). Some neurons are excited by larger reward whereas others are excited by smaller reward or reward omission (Nakamura et al., 2008). Thus, the role of serotonin may not be limited to punishment learning. Future investigations may benefit from precise dissociation between functionally different groups of serotonergic neurons, and, based on the present results, from focusing on history–effects.

Blockade of 5-HT₁ receptors in the AIC and OFC altered risk preferences, whereas blockade of 5-HT₂R receptors there had no effect on risk preferences. This could suggest that the increased risk aversion of humans after systemic injection of the low-affinity 5-HT_{2A} blocker ketanserin (Macoveanu et al., 2013) is not mediated by serotonin in the AIC and OFC. However, given that in the PFC about 60% of the pyramidal neurons and 20% of the GABAergic neurons contain 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptors, and the two receptor subtypes are highly co-localized (Amargós-Bosch et al., 2004; Santana et al., 2004), it is somewhat unexpected that injecting the 5-HT_{2A}R blocker in the AIC and OFC did not affect risk preference. 5-HT_{2A}R may thus co-work with other systems. Further experimentation is thus needed to elucidate the relation between risk taking and the 5-HT_{2A} receptors in both regions.

4.3. Outcome history-dependent effects of dopamine and serotonin in the AIC and OFC

The present study suggests that AIC dopamine via D₂ receptor affects risk preference after a risky choice resulted in a win, whereas AIC serotonin via 5-HT_{1A} receptor affects risk preference after a risky choice resulted in a loss. These outcome history-dependent effects imply that the two neuromodulators signal previous reward events with a time resolution in the order of seconds. In other words, the effects occur from trial to trial in the present task rather than arising from a more global influence on motivation over a whole session. Indeed, single unit recoding studies of dopamine neurons in the substantia nigra/ventral tegmental area and putative serotonin neurons in the dorsal raphe nucleus have shown that these neurons respond phasically to outcomes within the span of milliseconds or seconds (Schultz, 1986; Nakamura et al., 2008). These activities could affect subsequent reward- and loss-related behavior and concomitant neural activity. In line with this notion, history-dependent effects of dopamine and serotonin have been reported by previous studies (reviewed in Rogers, 2011). The present findings add to the previous ones by demonstrating

opposite outcome history-dependent effects of dopamine and serotonin in the same region and in the same task.

4.4. Conclusion

We have previously shown that inactivating the AIC decreases risk preference of rats, whereas inactivating the OFC increases it (Ishii et al., 2012). By implication, in intact animals the AIC appears to increase the propensity to make risky decisions whereas the OFC decreases it. The present study investigating how dopamine and serotonin affect risk preference through different receptor subtypes in the AIC and OFC found that D₂ and 5-HT_{1A} receptor blockade in the AIC increased risk taking and 5-HT_{1A} receptor blockade in the OFC decreased it. It thus seems that dopamine acting through D₂ receptors inhibits the function of the AIC and that serotonin acting through 5-HT_{1A} receptors inhibits the function of the OFC as well as that of the AIC. Since the activations of both D₂ and 5-HT_{1A} receptors decrease neuronal excitability (Barnes and Sharp, 1999; Seamans and Yang, 2004), blocking these receptors in the present study may have disinhibited the normal functions of the AIC and OFC in risky decision making.

However, because D₁R and 5-HT_{2A}R blockers in the AIC had different outcome history-dependent effects, AIC dopamine and serotonin appear to be involved in different aspects of risky decision making. Dopamine released after wins may, via D₂ receptors, suppress the risk-seeking function of the AIC and thereby prevent repeated risky choices after wins, whereas serotonin released after losses may, via 5-HT_{1A} receptors, suppress AIC function and prevent repeated risky choices after losses. Thus, dopamine and serotonin in the AIC appear to synergistically guide risky choice in an experience-dependent manner.

Conflicts of interest

The authors have no conflicts of interest to declare.

Acknowledgments

This study was supported by a Global Common Operating Environment Program of the Japanese Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology in the form of the “Basic and Translational Research Center for Global Brain Science” at Tohoku University. PNT was supported by Grants PP00P1_128574, PP00P1_150739, and CRSII3_141965 from the Swiss National Science Foundation.

References

- Amargós-Bosch, M., Bortolozzi, A., Puig, M.V., Serrats, J., Adell, A., Celada, P., Toth, M., Mengod, G., Artigas, F., 2004. Co-expression and in vivo interaction of serotonin1A and serotonin2A receptors in pyramidal neurons of prefrontal cortex. *Cereb. Cortex* 14, 281–299.
- Barnes, N.M., Sharp, T., 1999. A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology* 38, 1083–1152.
- Berger, B., Gaspar, P., Verney, C., 1991. Dopaminergic innervation of the cerebral cortex: unexpected differences between rodents and primates. *Trends Neurosci.* 14, 21–27.
- Berger, B., Thierry, A.M., Tassin, J.P., Moyné, M.A., 1976. Dopaminergic innervation of the rat prefrontal cortex: a fluorescence histochemical study. *Brain Res.* 106, 133–145.
- Burke, C.J., Brünger, C., Kahnt, T., Park, S.Q., Tobler, P.N., 2013. Neural integration of risk and effort costs by the frontal pole: only upon request. *J. Neurosci.* 33, 1706–1713.
- Cools, R., Nakamura, K., Daw, N.D., 2011. Serotonin and dopamine: unifying affective, motivational, and decision functions. *Neuropsychopharmacology* 36, 98–113.
- Fiorillo, C.D., 2011. Transient activation of midbrain dopamine neurons by reward risk. *Neuroscience* 197, 162–171.
- Fiorillo, C.D., Tobler, P.N., Schultz, W., 2003. Discrete coding of reward probability and uncertainty by dopamine neurons. *Science* 299, 1898–1902.
- Fujita, S., Kiguchi, M., Lee, J., Terakado, M., Suga, K., Hatanaka, H., Koshikawa, N., 2008. 5-HT(1A) and 5-HT(1B) receptors in the ventrolateral striatum

- differentially modulate apomorphine-induced jaw movements in rats. *J. Oral Sci.* 50, 387–395.
- Furr, A., Lapiz-Bluhm, M.D., Morilak, D.A., 2012. 5-HT_{2A} receptors in the orbitofrontal cortex facilitate reversal learning and contribute to the beneficial cognitive effects of chronic citalopram treatment in rats. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 15, 1295–1305.
- Hoover, W.B., Vertes, R.P., 2011. Projections of the medial orbital and ventral orbital cortex in the rat. *J. Comp. Neurol.* 519, 3766–3801.
- Inaba, K., Mizuhiki, T., Setogawa, T., Toda, K., Richmond, B.J., Shidara, M., 2013. Neurons in monkey dorsal raphe nucleus code beginning and progress of step-by-step schedule, reward expectation, and amount of reward outcome in the reward schedule task. *J. Neurosci.* 33, 3477–3491.
- Ishii, H., Ohara, S., Tobler, P.N., Tsutsui, K., Iijima, T., 2012. Inactivating anterior insular cortex reduces risk taking. *J. Neurosci.* 32, 16031–16039.
- Koot, S., Zoratto, F., Cassano, T., Colangeli, R., Laviola, G., van den Bos, R., Adriani, W., 2012. Compromised decision-making and increased gambling proneness following dietary serotonin depletion in rats. *Neuropharmacology* 62, 1640–1650.
- Kuhnen, C.M., Chiao, J.Y., 2009. Genetic determinants of financial risk taking. *PLoS ONE* 4, e4362.
- Linley, S.B., Hoover, W.B., Vertes, R.P., 2013. Pattern of distribution of serotonergic fibers to the orbitomedial and insular cortex in the rat. *J. Chem. Neuroanat.* 48/49, 29–45.
- Logan, F.A., 1965. Decision making by rats: uncertain outcome choices. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 59, 246–251.
- Long, A.B., Kuhn, C.M., Platt, M.L., 2009. Serotonin shapes risky decision making in monkeys. *Soc. Cogn. Affect. Neurosci.* 4, 346–356.
- Macoveanu, J., Rowe, J.B., Hornboll, B., Elliott, R., Paulson, O.B., Knudsen, G.M., Siebner, H.R., 2013. Serotonin 2A receptors contribute to the regulation of risk-averse decisions. *Neuroimage* 83C, 35–44.
- Mai, B., Hauber, W., 2012. Intact risk-based decision making in rats with prefrontal or accumbens dopamine depletion. *Cogn. Affect. Behav. Neurosci.* 12, 719–729.
- Murphy, S.E., Longhitano, C., Ayres, R.E., Cowen, P.J., Harmer, C.J., Rogers, R.D., 2009. The role of serotonin in nonnormative risky choice: the effects of tryptophan supplements on the “reflection effect” in healthy adult volunteers. *J. Cogn. Neurosci.* 21, 1709–1719.
- Nakamura, K., Matsumoto, M., Hikosaka, O., 2008. Reward-dependent modulation of neuronal activity in the primate dorsal raphe nucleus. *J. Neurosci.* 28, 5331–5343.
- Ohara, P.T., Granato, A., Moallem, T.M., Wang, B.R., Tillet, Y., Jasmin, L., 2003. Dopaminergic input to GABAergic neurons in the rostral agranular insular cortex of the rat. *J. Neurocytol.* 32, 131–141.
- Oyama, K., Hernádi, I., Iijima, T., Tsutsui, K., 2010. Reward prediction error coding in dorsal striatal neurons. *J. Neurosci.* 30, 11447–11457.
- Parker, J.G., Wanat, M.J., Soden, M.E., Ahmad, K., Zweifel, L.S., Bamford, N.S., Palmiter, R.D., 2011. Attenuating GABA(A) receptor signaling in dopamine neurons selectively enhances reward learning and alters risk preference in mice. *J. Neurosci.* 31, 17103–17112.
- Paxinos, G., Watson, C., 2007. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, sixth ed. Academic Press, London.
- Ranade, S.P., Mainen, Z.F., 2009. Transient firing of dorsal raphe neurons encodes diverse and specific sensory, motor, and reward events. *J. Neurophysiol.* 102, 3026–3037.
- Roberts, A.C., 2011. The importance of serotonin for orbitofrontal function. *Biol. Psychiatry* 69, 1185–1191.
- Robinson, E.S., Dalley, J.W., Theobald, D.E., Glennon, J.C., Pezze, M.A., Murphy, E.R., Robbins, T.W., 2008. Opposing roles for 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors in the nucleus accumbens on inhibitory response control in the 5-choice serial reaction time task. *Neuropsychopharmacology* 33, 2398–2406.
- Rogers, R.D., 2011. The roles of dopamine and serotonin in decision making: evidence from pharmacological experiments in humans. *Neuropsychopharmacology* 36, 114–132.
- Rogers, R.D., Tunbridge, E.M., Bhagwagar, Z., Drevets, W.C., Sahakian, B.J., Carter, C.S., 2003. Tryptophan depletion alters the decision-making of healthy volunteers through altered processing of reward cues. *Neuropsychopharmacology* 28, 153–162.
- Rushworth, M.F., Noonan, M.P., Boorman, E.D., Walton, M.E., Behrens, T.E., 2011. Frontal cortex and reward-guided learning and decision-making. *Neuron* 70, 1054–1069.
- Santana, N., Bortolozzi, A., Serrats, J., Mengod, G., Artigas, F., 2004. Expression of serotonin 1A and serotonin 2A receptors in pyramidal and GABAergic neurons of the rat prefrontal cortex. *Cereb. Cortex* 14, 1100–1109.
- Santana, N., Mengod, G., Artigas, F., 2009. Quantitative analysis of the expression of dopamine D₁ and D₂ receptors in pyramidal and GABAergic neurons of the rat prefrontal cortex. *Cereb. Cortex* 19, 849–860.
- Schultz, W., 1986. Responses of midbrain dopamine neurons to behavioral trigger stimuli in the monkey. *J. Neurophysiol.* 56, 1439–1461.
- Seamans, J.K., Yang, C.R., 2004. The principal features and mechanisms of dopamine modulation in the prefrontal cortex. *Prog. Neurobiol.* 74, 1–58.
- Sevy, S., Hassoun, Y., Bechara, A., Yechiam, E., Napolitano, B., Burdick, K., Delman, H., Malhotra, A., 2006. Emotion-based decision-making in healthy subjects: short-term effects of reducing dopamine levels. *Psychopharmacology (Berl.)* 188, 228–235.
- St Onge, J.R., Abhari, H., Floresco, S.B., 2011. Dissociable contributions by prefrontal D₁ and D₂ receptors to risk-based decision making. *J. Neurosci.* 31, 8625–8633.
- St Onge, J.R., Floresco, S.B., 2009. Dopaminergic modulation of risk-based decision making. *Neuropsychopharmacology* 34, 681–697.
- Takahashi, H., 2012. Monoamines and assessment of risks. *Curr. Opin. Neurobiol.* 22, 1062–1067.
- Tanaka, S.C., Shishida, K., Schweighofer, N., Okamoto, Y., Yamawaki, S., Doya, K., 2009. Serotonin affects association of aversive outcomes to past actions. *J. Neurosci.* 29, 15669–15674.
- Tobler, P.N., O’Doherty, J.P., Dolan, R.J., Schultz, W., 2007. Reward value coding distinct from risk attitude-related uncertainty coding in human reward systems. *J. Neurophysiol.* 97, 1621–1632.
- Van De Werd, H.J., Uylings, H.B., 2008. The rat orbital and agranular insular prefrontal cortical areas: a cytoarchitectonic and chemoarchitectonic study. *Brain Struct. Funct.* 212, 387–401.